

(Aus der Chemischen und der Histologischen Abteilung des Karolinischen Instituts Stockholm.)

## CYTOPLASMANUKLEOTIDE IN EIWEISSPRODUZIERENDEN DRÜSENZELLEN.

Von

T. CASPERSSON, H. LANDSTRÖM-HYDÉN und L. AQUILONIUS.

Mit 22 Textabbildungen (25 Einzelbildern).

(Eingegangen am 4. Juni 1941.)

In einer vorhergehenden Arbeit wurde in dieser Zeitschrift die Rolle des Zellkerns beim Eiweißstoffwechsel der Zelle behandelt (CASPERSSON 1940). Nach dieser scheint der Kern ein Zentrum der Eiweißproduktion zu sein, ein Prozeß, bei welchem die verschiedenen Teile desselben beteiligt sind. Für die Beurteilung der allgemeinen Geltung dieses Mechanismus ist die Entstehungsweise derjenigen Eiweißmassen, welche in gewissen Drüsenzellen auftreten und nicht in der Zelle bleiben, von Wichtigkeit. In der vorliegenden Arbeit werden daher eine Anzahl verschiedener Drüsen mit Eiweißproduktion behandelt, und ferner wird gezeigt, daß sich die cytochemischen Mechanismen zur Bildung dieser Substanzen an die früher beschriebenen anschließen, welche mit der Bildung der zelleigenen Eiweißkörper zu tun haben.

Die Bauchspeicheldrüse ist das Organ, bei welchem die Nukleinsäuren den Gegenstand der umfassendsten chemischen Untersuchungen gebildet haben.

O. HAMMARSTEN (1894) stellte ein „ $\beta$ -Nukleoproteid“ dar, das nachweislich Pentosen in beträchtlicher Menge enthielt. BANG (1898, 1901) fand im Pankreas erhebliche Mengen einer Nukleinsäure, welche als einzige Base Guanin enthielt. LEVENE isolierte Thymonukleinsäure (Desoxy-pentosepolynukleotid) aus Pankreas-substanz (1901, 1903, 1904, 1922). FEULGEN (1919) stellte aus der Bauchspeicheldrüse ein Polynukleotid dar, welches er für eine Verbindung von Guanylsäure und Thymonukleinsäure hielt. Gleichzeitig damit fand E. HAMMARSTEN (1920) im Pankreas ein guaninreiches Polynukleotid mit hohem Pentosegehalt. JORPES untersuchte die quantitative Zusammensetzung dieses Polynukleotids eingehend. Die Pentosenukleinsäure machte nicht weniger als 85% des gesamten Nukleinsäuregehalts aus (JORPES 1928). Die übrigen 15% bestanden aus Desoxy-pentose-nukleotiden.

Die Bauchspeicheldrüse zeichnet sich durch einen sehr hohen Gehalt an Nukleinsäuren aus, nächst der Thymusdrüse durch den höchsten im Tierorganismus. Pentosepolynukleotide sind später auch in anderen Tierorganen nachgewiesen worden, wenn auch nirgends in so großen Mengen wie im Pankreas.

Untersuchungen über die Nukleinsäureverteilung in den Zellen mittels photographischer und photoelektrischer Methoden zur Messung des

Absorptionsspektrums von Zellbestandteilen, den unten wiedergegebenen entsprechend, haben bei verschiedenem Material ergeben, daß Substanzen mit der Absorptionsbande der Nukleinsäuregruppe im Ultraviolett in praktisch allen Zellen sowohl im Kern wie im Cytoplasma in erheblichen Mengen vorkommen (siehe CASPERSSON 1940). Die Desoxypentosenukleinsäuren sind streng an die tragenden Chromosomen-elemente gebunden, während die Pentosenukleotide sowohl im Kern, besonders im Nukleolus, als auch vor allem im Cytoplasma auftreten. In bezug auf Einzelheiten wird auf die Erörterung am Schluß der vorliegenden Arbeit verwiesen.

#### Material und Technik.

Die Nukleinsäuregruppe zeichnet sich durch eine besonders hohe Absorptionsbande im Ultraviolett bei 2600 Å aus. Dieselbe wird von den Pyrimidinringen in den in den Nukleotiden enthaltenen Basen bedingt. Wie früher gezeigt worden war (CASPERSSON 1936), ist im Zellmaterial diese Absorptionsbande als recht spezifisch für diese Gruppe zu betrachten. Aus dem Nachweis der 2600 Å-Bande in einem Zellteil läßt sich daher mit ziemlich großer Wahrscheinlichkeit auf die Anwesenheit von Nukleotiden, oder korrekter ausgedrückt: von zyklischen Basen derselben schließen, welche jedoch nach allem, was uns von makrochemischen Untersuchungen her bekannt ist, nur in sehr kleinen Konzentrationen frei in Zellen vorkommen. Die wichtigsten Gruppen von Stoffen, welche in derartigen Mengen vorkommen können, daß man sich einen störenden Einfluß ihrer relativ weit schwächeren Absorption denken könnte, sind Eiweißkörper und gewisse Sterine (insbesondere Pflanzensterine). Die Eiweißbande liegt soweit auf der langwelligen Seite, daß sie sich leicht von der Nukleinsäurebande unterscheiden läßt; sie kann zur gleichzeitigen Bestimmung der Mengen und Arten von Eiweiß in den Zellstrukturen dienen. Die Absorptionsbanden der Sterine liegen ebenfalls in praktisch sämtlichen Fällen bei einer höheren Wellenlänge als die der Nukleinsäurebasen, sind außerdem bei weitem niedriger und lassen sich im Zweifelsfalle durch Vergleich mit dem Spektrum nach Lipoidextraktion eliminieren. Um die Sterinabsorption auszuschalten wurden die Präparate, deren Messungsergebnisse unten wiedergegeben sind, in den meisten Fällen mit Chloroform und Alkohol vorbehandelt. Aus einem Absorptionsspektrum für einen Zellbestandteil kann man also bestimmen, ob in ihm Nukleotide enthalten sind, ob Eiweiß vorhanden ist und ob dieses Eiweiß zyklische Aminosäuren enthält; außerdem lassen sich gewisse Aufschlüsse über den Charakter des Eiweißes erhalten. Ist das Präparat zweckentsprechend vorbehandelt, so daß die Lichtstreuung in demselben weitgehend eliminiert wird, dann können auch die absoluten Mengen dieser Substanzen gemessen werden. Weitere Einzelheiten sind in den Originalarbeiten (siehe CASPERSSON 1940/41) nachzulesen.

Die Meßapparatur ist in den soeben zitierten Arbeiten ausführlich beschrieben. Im Prinzip findet die Messung so statt, daß das mikroskopische Objekt mit monochromatischem ultraviolettem Licht beleuchtet wird. Ein Bild des Objektes wird durch ein Mikroskopobjektiv für ultraviolettes Licht auf eine photoelektrische Zelle geworfen, wobei die Vergrößerung so gewählt wird, daß der zu messende Zellabschnitt die Öffnung der Photozelle gerade deckt. Aus der Stärke des Photostroms läßt sich die Lichtabsorption berechnen. Die Prozedur wird in verschiedenen Wellenlängen wiederholt, so daß man nach Zusammenstellung der Meßdaten ein Absorptionsspektrum mit beliebig dichten Meßpunkten erhält.

Die Präparate wurden in den meisten Fällen nach der Freezing-drying-Methode angefertigt, wie sie von GERSH ausgearbeitet worden ist. Bei gewöhnlichen Fixierungen wird der Verlauf der Kurve bei der Absorptionsmessung durch die Lichtstreuung im Präparat einigermaßen beeinflusst. Bei Fixierung nach GERSH läßt sich dieser Faktor fast restlos eliminieren, weshalb die absoluten Mengen der absorbierenden Substanzen aus den Absorptionskurven berechnet werden können.

#### Messungen an Pankreasmaterial.

Untersucht wurde Pankreas vom Menschen, Kaninchen, von der Maus, der Katze und von dem Knochenfisch *Lophius piscatorius*. Das cytologische Bild eines Kaninchenpankreas von einem hungrigen Tier wird aus Abb. 1 ersichtlich. Abb. 2 zeigt eine Gruppe von Absorptionsspektren, von Punkten im Cytoplasma solcher Zellen innerhalb des stark lichtabsorbierenden Teils aufgenommen. Die Kurven demonstrieren das Vorkommen einer starken Absorptionsbande bei 2600 Å, was einem beträchtlichen Gehalt an Nukleotiden entspricht. Die Kurve ist jedoch keine reine Nukleinsäurekurve (vgl. Kurve 4), sondern über dieselbe ist eine Eiweißabsorption gelagert (von demjenigen Typ, welchen Kurve 5 zeigt), die als eine starke Steigerung der Absorption im Bereich von 2800–3000 Å sowie unter 2500 Å in Erscheinung tritt. Infolge ihres sehr hohen spezifischen Absorptionskoeffizienten bei 2600 Å müssen die Nukleinsäuren die Absorption in dieser Wellenlänge offensichtlich voll und ganz beherrschen (eine Albuminlösung entfaltet hier nur ca.  $1/40$  der Absorption einer Nukleinsäurelösung von gleicher Konzentration, berechnet als Extinktionskoeffizient). Die Photographien in der vorliegenden Arbeit sind sämtlich bei der Wellenlänge 2570 Å sowie mit hoher Kondensorapertur aufgenommen. Infolge der hohen Apertur im

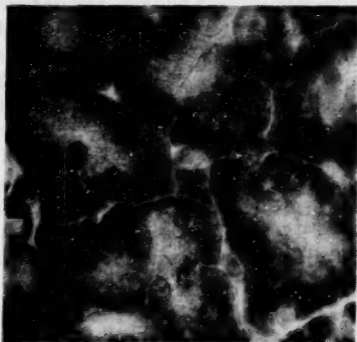


Abb. 1. Pankreas vom Kaninchen (Hungertier). Gefrierfixierung nach GERSH. In Glycerin bei der Wellenlänge 2570 Å photographiert. Vergr. 1100. Die stark ultraviolettabsorbierende Substanz ist an der Zellbasis angesammelt. In einzelnen Gebieten tritt eine Tendenz zu lamellenförmiger Anordnung hervor.

beleuchtenden Strahlenbündel muß das mikrophotographische Bild praktisch völlig von den *Lichtabsorptionen* im Präparat bedingt werden, während der Einfluß der *Lichtbrechung* unbedeutend ist. Dies wird

dadurch am anschaulichsten demonstriert, daß sich weder Einzelheiten noch große Züge des Präparates unterscheiden lassen, wenn letzteres mit derselben Kondensorblende in einer Wellenlänge von 3300 Å oder darüber photographiert wird, wo die Zellsubstanzen keine Lichtabsorption ausüben. Wenn die *Lichtabsorptionen* das Bild gänzlich beherrschen und bei der betreffenden Wellenlänge die Nukleinsäurebande überwiegt, dann wird schon die photographische Platte die Hauptzüge der Nukleinsäureverteilung erkennen lassen. Dies gilt jedoch lediglich von wirklich starken Absorptionen. Schwache Absorptionen können ebenso wohl durch eine große Eiweißmenge wie durch eine kleine Nukleinsäuremenge bewirkt worden sein. Die einzige Entscheidungsmöglichkeit in einem derartigen Falle bietet die Aufnahme des Absorptionsspektrums. Die bequemste Methode zur Untersuchung der Nukleinsäureverteilung ist folglich die Messung von Absorptionsspektren der Bestandteile

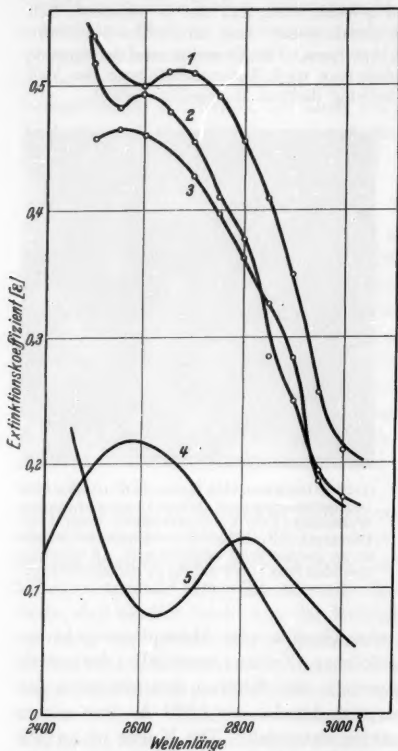


Abb. 2. Absorptionsspektren (Kurve 1, 2 und 3) von Punkten in den Basalteilen von Pankreaszellen des Kaninchens (vgl. Abb. 1). Kurve 4 und 5 demonstrieren den Prinzipverlauf von Absorptionsspektren der Nukleinsäure ( $10^{-10}$  mg/ $\mu^2$ ) bzw. von Eiweißkörpern vom Albumin-Globulintyp ( $2 \cdot 10^{-3}$  mg/ $\mu^2$ ).

einzelner Zellen und der Vergleich der Photographien der gemessenen Zellen mit anderen, auf dieselbe Weise photographierten Zellen. Man kann dann oft mit großer Wahrscheinlichkeit entscheiden, ob der Absorptionstyp der letzteren dem der gemessenen Zellen entspricht.

Die Absorptionsspektren auf Abb. 2 zeigen die Anwesenheit großer Mengen von Nukleotiden im Cytoplasma; Photographien verschiedener



Präparate sowie verschiedener Teile desselben Präparates weisen eine große Übereinstimmung miteinander auf. Das Cytoplasma ist völlig FEULGEN-negativ. Da hier den Absorptionsmessungen nach von Nukleotidkonzentrationen bis zu einigen Prozent die Rede ist, muß der negative Ausfall anzeigen, daß es sich — wenigstens zum weit überwiegenden Teil — um Nukleotide vom *Pentosetyp* handelt. Da sich, wie oben ausgeführt worden ist, das Pankreas bei makrochemischen Untersuchungen als außerordentlich reich an Pentosepolynukleotiden erwiesen hat, muß es sich hier offenbar um solche handeln; sie sind also hauptsächlich in den basalen Teilen des Cytoplasmas lokalisiert. Die Größenordnung der Mengen, welche hier in Betracht kommen, läßt sich aus den Absorptionsmessungen berechnen. Bei 2600 Å bedingen die Nukleinsäureabsorptionen (Abb. 2) 0,35—0,40 im Extinktionskoeffizient. Das entspricht einer Menge von  $2,10^{-10}$  mg Nukleotide pro  $\mu^2$ . Die Schnitt-dicke beträgt  $5\mu$ , weshalb die Nukleotidkonzentration im Meßpunkt bei 4% liegt. Wie aus den Photographien hervorgeht, ist jedoch die Verteilung in den Zellen ungleichförmig, indem die Basalpartien, von welchen die Kurven auf Abb. 2 stammen, weit reicher an Nukleotiden sind als die übrigen Zellteile. Außerdem ändert sich die Menge beträchtlich mit der Funktion. Bei den hungernden Tieren muß die Konzentration im gesamten Drüsenparenchym schätzungsweise bei etwa der Hälfte der angegebenen Zahl liegen (vgl. die Photographien), also bei etwa 2%. Im Rinderpankreas fand JORPES bei seinen makrochemischen Untersuchungen einen wahrscheinlichen Nukleinsäurephosphorgehalt von 0,223% als mittleren Wert für 9 verschiedene Drüsen, was 2% Nukleinsäure entspricht. Die vollständige Übereinstimmung ist natürlich nur zufällig. Die Berechnung ist infolge von Unsicherheitsmomenten bei der Schätzung der Verbreitung von absorbierender Substanz mit erheblichen Fehlern behaftet. Es ist indessen sicher, daß die Größenordnungen gut übereinstimmen.

Abb. 3 zeigt eine Anzahl von Absorptionsspektren, welche in derselben Zelle, aber in verschiedenem Abstand von der Basis, aufgenommen worden sind. Die Kurve für den Punkt am nächsten zur Basis weist eine besonders starke Nukleinsäurebande sowie außerdem Eiweißkörper mit zyklischen Aminosäuren auf. Kurve 2, weiter oben in der Zelle aufgenommen, zeigt eine wesentlich geringere Nukleinsäurekonzentration an.

Das Gebiet um 2800 Å, wo das Maximum der Eiweißabsorption liegt, ist nicht mehr gesenkt als sich durch den Unterschied in der Nukleinsäurekonzentration erklären läßt, weshalb die Eiweißkonzentration ungefähr dieselbe sein muß und also in diesem Punkt nicht herabgesetzt sein kann. In Übereinstimmung hiermit sind auch die Absorptionen bei 2400 Å, wo die Eiweißabsorption rasch gestiegen ist, während die Nukleinsäureabsorptionskurve schnell fällt, ungefähr die gleichen. Weiter im Innern der Zelle, oberhalb des Kerns, nehmen sowohl Nukleinsäure-

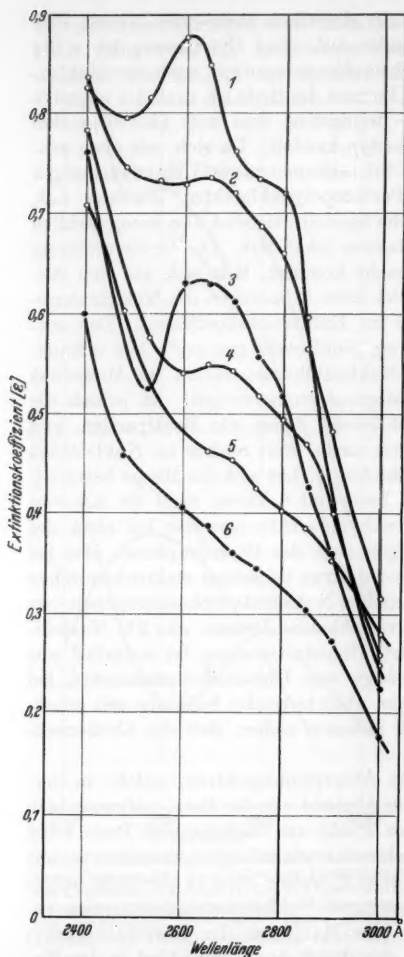


Abb. 3. Absorptionsspektren von Pankreaszellen des Kaninchens. Kurve 1 ist dicht an der Zellbasis gemessen, Kurve 2, 4 und 5 in derselben Zelle in steigendem Abstand von der Basis, 5 nahe am Drüsenlumen. Die Kurven 3 und 6 stammen von einer anderen Zelle; 3 ist nahe an der Basis, 6 nahe am Lumen aufgenommen.

als auch Eiweißkonzentrationen ab, der Entwicklung des definitiven Sekrets entsprechend, das ja viel wasserreicher ist als der Durchschnitt der Drüsensubstanz. Typisch ist jedoch, daß die Nukleinsäurekonzentration rascher sinkt als die Eiweißkonzentration.

Untersuchungen der Drüse verschieden lange Zeit nach Pilokarpininjektion ergaben, daß die Nukleotidkonzentration in der Zelle während des Stapelstadiums maximal ist, und daß dieselbe bei der raschen Extrusion abnimmt. Ganz verschwinden die Nukleotide nicht einmal nach Behandlung mit großen Dosen, sondern stets bleiben bedeutende Mengen an der Zellbasis zurück (Abb. 4, Kaninchen; Abb. 5b, Maus). Nach der Pilokarpinbehandlung

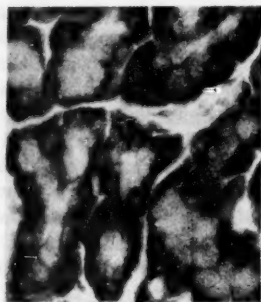


Abb. 4. Pankreas vom Kaninchen 20 Min. nach starker Pilokarpininjektion. Ganz basal in der Zelle recht große Nukleotidkonzentrationen, besonders hoch rings um die Kerne. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 500.

findet man in vielen Zellen, daß die absorbierende Substanz lamellenförmig gebaut ist, mit senkrecht zur Zellbasis stehenden Lamellen.

Dieser Charakter tritt jedoch weit weniger ausgeprägt hervor als die Lamellenstruktur des Ergastoplasmas, welche in auf gewöhnliche Weise fixierten und gefärbten Drüsenzellen zum Vorschein kommt. Während die Kernmembran in Drüsenzellen von ausgehungerten Tieren wenig hervortritt, erscheint sie nach Pilokarpinbehandlung als eine stark ultraviolettabsorbierende Membran. Im Cytoplasma unmittelbar an derselben sieht man oft beträchtliche Nukleotidmassen. Dieses Bild ähnelt in hohem Grade den in anderen Zellen von SCHULTZ

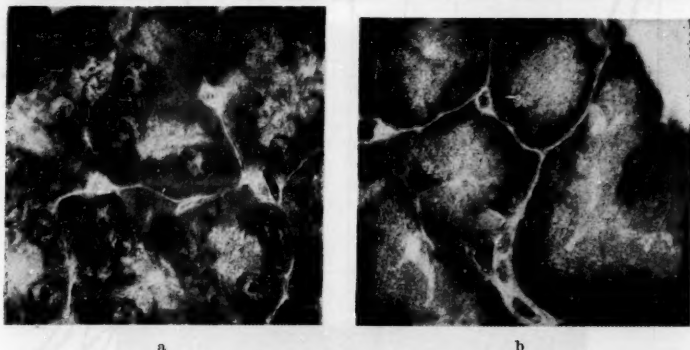


Abb. 5 a und b. Pankreas der weißen Maus, a ausgehungertes Tier, b 20 Min. nach Pilokarpininjektion. Photographie wie bei Abb. 1.

und CASPERSSON beobachteten (vgl. CASPERSSON 1941), welche unserer Ansicht nach zeigten, daß die Cytoplasmanukleotide an der eigentlichen Kernmembran gebildet werden und von dort in das Cytoplasma hinausströmen.

Abb. 6 enthält eine Gruppe von Kurven, vergleichbar mit Abb. 2, aber von Drüsen pilokarpinbehandelter Tiere. Die Absorptionskurven lassen deutlich die Nukleinsäurebande bei 2600 Å und eine Eiweißbande über 2800 Å erkennen. Der allgemeine Kurvenverlauf ist nicht derselbe wie bei Hungertieren. Bei diesen beobachtet man nur in vereinzelten Fällen den Absatz in der Gegend von 2850 Å, welcher in den pilokarpinisierten Drüsen durchgehends hervortritt. Einem früher geführten Nachweis (CASPERSSON 1940) gemäß bedeutet das Hervortreten dieser Stufe eine Verschiebung des Eiweißabsorptionsmaximums nach der langwelligen Seite hin. Dieses Phänomen wurde bei basischen Eiweißkörpern beobachtet, weshalb dieser Absorptionstyp als Histontyp bezeichnet worden ist. In der pilokarpinisierten Drüse mit ihrer intensiven Funktion tritt also das Eiweißband vom Histontyp bei weitem mehr hervor als in der Drüse des hungernden Tieres, wo die Eiweißabsorption dem Typ der höheren Eiweißstoffe entspricht.

Auf Abb. 7 stammen die Kurven paarweise von verschiedenen Orten derselben Zelle. Die mit a bezeichneten Kurven sind ganz peripher aufgenommen, während die mit b bezeichneten ihren Ursprungsort mehr

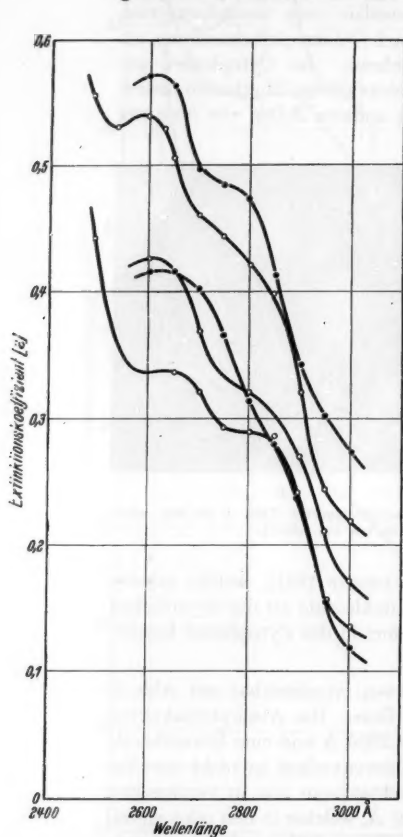


Abb. 6.

Abb. 6. Absorptionsspektren von basalen Zellteilen in einer pilokarpinisierten Drüse. Weiße Maus.

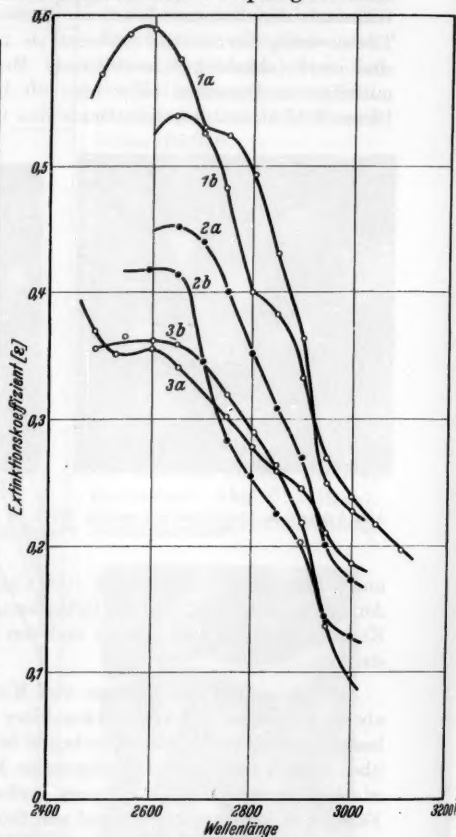


Abb. 7.

Abb. 7. Absorptionsspektren von basalen Teilen (mit a bezeichnet) und zentraleren Teilen (b) derselben Zellen aus einem pilokarpinisierten Kaninchenpankreas.

zentral haben. Sämtliche mit a bezeichneten Kurven zeigen eine deutliche Stufe bei 2850 Å — eine Absorption vom Histontyp —, während diese in den b-Kurven weit weniger ausgesprochen ist. Die peripheren Teile der Zellen sind also reicher an Substanzen vom Histonabsorptionstyp.

Dasselbe Verhalten geht auch aus den Niveaueurven auf Abb. 3 hervor. Bei den nicht mit Pilokarpin behandelten Tieren ist die Histonabsorption erheblich weniger ausgesprochen, aber auch hier gilt, daß die basalen Zellteile am reichsten an Substanzen mit diesem Absorptionstyp sind.

Der endokrine Teil des Pankreas unterscheidet sich hinsichtlich des Nukleotidgehalts ganz wesentlich von dem exokrinen. Schon auf einer Ultraviolett-mikrophotographie bei 2570 Å zeigt sich dieser Unterschied in recht augenfälliger Weise (Abb. 8). Absorptionsspektren vom Cytoplasma nebeneinander liegender Zellen in ein und demselben Präparat

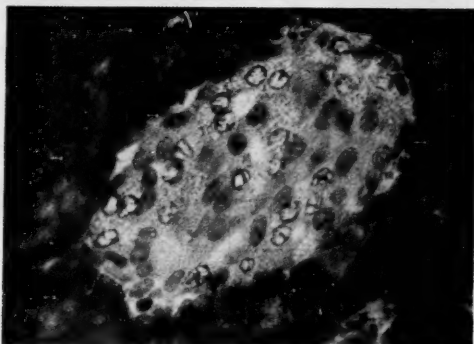


Abb. 8. LANGERHANSsche Insel von der Maus. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 1100. Der nukleotidreiche exokrine Teil absorbiert stark, während die Insel kaum absorbiert.

an der Grenze zwischen endokrinem und exokrinem Teil sind auf Abb. 9 dargestellt. Die Kurven vom exokrinen Teil zeigen die oben beschriebene hohe Nukleotidkonzentration, während die Kurven von den Inselzellen keinen sicheren Cytoplasmanukleotidgehalt erkennen lassen. Abb. 10 gibt einige von einem dickeren Schnitt im Inselgewebe aufgenommene Kurven wieder, um eine bessere Anschauung vom Verlauf der Absorptionskurve zu vermitteln. Sie zeigt ein ausgeprägtes Eiweißmaximum in der Gegend von 2800 Å und keinen sicheren Nukleinsäuregehalt an. Der höchste Nukleotidgehalt, welcher mit dem Kurvenverlauf vereinbar wäre, liegt unter  $\frac{1}{100}$  der Eiweißkonzentration (während im exokrinen Teil das Verhältnis etwa  $\frac{1}{4}$  erreichen kann). In diesem speziellen Falle läßt sich außerdem auch infolge der Dicke des Schnittes und der schwachen Absorption der Kerne nicht ausschließen, daß das Kernchromatin den Kurvenverlauf beeinflußt haben könnte.

Gewisse makrochemische Untersuchungen über die Zusammensetzung des Insularorganes sind bei Knochenfischen ausgeführt worden, wo die LANGERHANSschen Inseln in den meisten Fällen zu einem gesonderten Organ vereinigt sind. E. HAMMARSTEN, G. HAMMARSTEN und

H. OLIVECRONA (1928) erhielten nur eine Spur Furfurol aus Drüsen von Hunden, bei welchen vorher die Hauptausführungsgänge des Pankreas

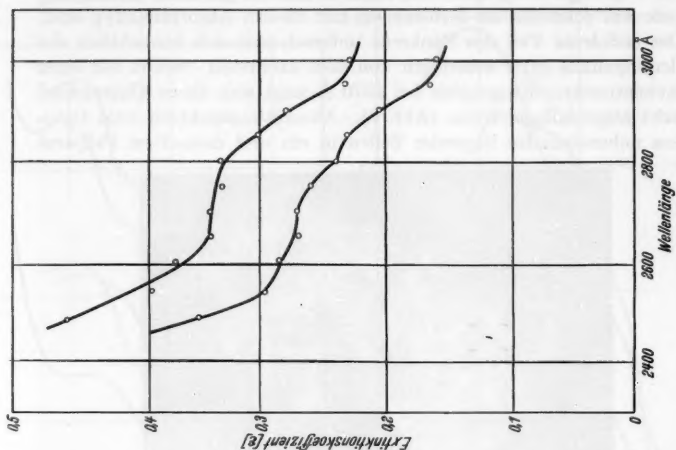


Abb. 10.

Absorptionsspektren von Inselzellen und von umgebenden Zellen. 1 und 2 exokrine, 3 und 4 endokrine Zellen.

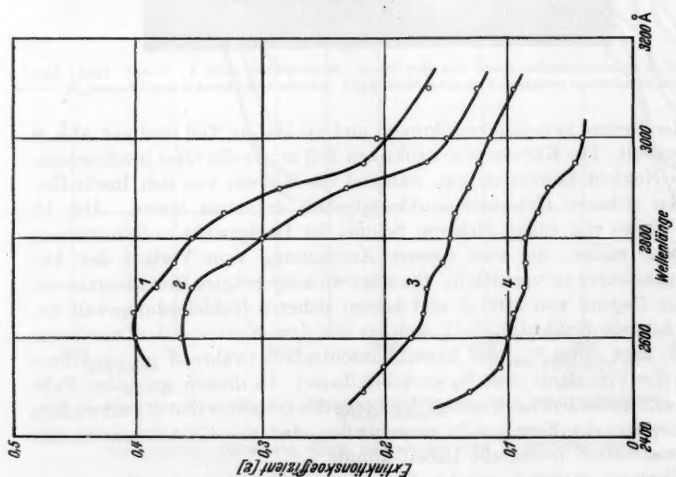


Abb. 9.

Absorptionsspektren von Punkten im Cytoplasma von Inselzellen und von umgebenden Zellen. 3 und 4 endokrine Zellen.

unterbunden worden waren, was ein vollständiges Verschwinden des zymogenen Gewebes zur Folge hatte. Bei gewissen Selachiern (*Lophius piscatorius* und *Paralichthys dentatus*) konnte JORPES (1930) so große

Quantitäten des Insularorgans erhalten, daß diese auf ihren Nukleinsäuregehalt hin analysiert werden konnten. Derselbe war auffallend gering und blieb weit hinter dem Durchschnitt für die Bauchspeicheldrüsen derjenigen Selachier zurück, bei welchen sich genügend große Pankreasmenngen zur Analyse gewinnen ließen.

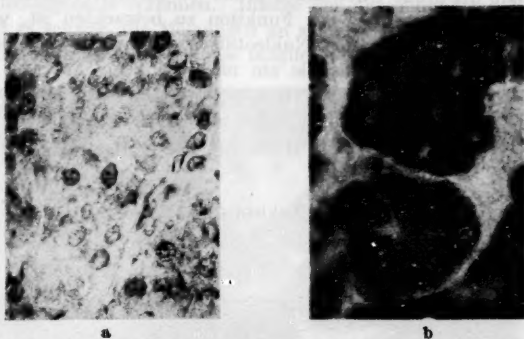


Abb. 11 a und b. Pankreas von *Lophius piscatorius*. a Haufen vom endokrinen Teil, b exokriner Teil.

Die Abb. 11 a und b zeigen Ultraviolettphotographien des Insularorgans und der exokrinen Pankreaszellen von *Lophius piscatorius*. Die

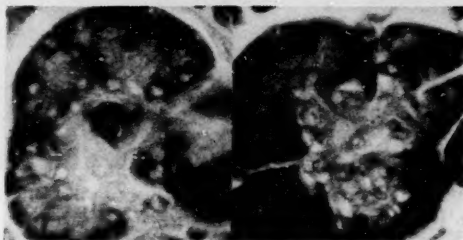


Abb. 12. Pankreasazini vom Menschen. Die zentroazinären Zellen haben ein fast nukleinsäurefreies Cytoplasma. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 1100.

Zellen des ersteren haben, wie die der Langerhansschen Inseln auf den obigen Lichtbildern, ein sehr schwach absorbierendes Cytoplasma, während die letzteren dagegen eine sehr starke Cytoplasmaabsorption aufweisen, welche hohen Nukleotidkonzentrationen entspricht, in voller Übereinstimmung zu den oben beschriebenen Verhältnissen bei Säugtieren. Die Untersuchung im Ultraviolett liefert also mit den chemischen Untersuchungen von Jorpes im Einklang stehende Resultate.



Das Insularorgan scheint also, mag es nun wie bei gewissen Fischen zu größeren Körpern vereinigt oder wie bei Säugetieren in Tausende von Inselchen aufgesplittert sein, hinsichtlich seines Nukleotidgehaltes von dem eigentlichen Pankreasgewebe grundverschieden zu sein. Embryologisch stammen die beiden Zellarten von einem gemeinsamen Zelltyp ab, weshalb der große Unterschied in der chemischen Zusammensetzung unter dem Gesichtswinkel der Funktion zu betrachten ist, wobei ein Zusammenhang zwischen dem Nukleotidsystem und der hohen sekretorischen Potenz der Pankreaszelle am nächsten liegt.

Eine andere Gruppe von Zellen in der Bauchspeicheldrüse, welche cytologisch von den exokrinen Zellen erheblich abweichen, bilden die zentroazinären Zellen. Abb. 12 zeigt, daß diese sehr arm an Nukleotiden sind.

#### Das Vorkommen von Nukleotiden in anderen Drüsen.

In den großen serösen Speicheldrüsen, welche dem Pankreas zytologisch ähnlich sind, kommen ebenfalls Nukleotide in großen Mengen vor. Abb. 13 stellt als Beispiel eine Ultraviolettphotographie der Parotis vom Kaninchen dar. Man bemerkt eine große Ähnlichkeit des Bildes mit denjenigen von der

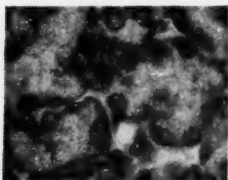


Abb. 13.

Abb. 13. Parotis vom Kaninchen. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 1100.

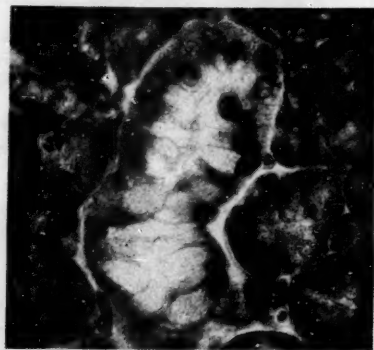


Abb. 14.

Abb. 14. Submaxillaris vom Kaninchen. Der seröse Teil hat stark nukleinsäurehaltige Cytoplasmen. Die mukösen Zellen haben basal geringere Mengen von absorbierender Substanz. Das helle Cytoplasma sticht sonst stark von umgebenden serösen Zellen ab. Photographie wie bei Abb. 13.

Bauchspeicheldrüse. In den gemischten Drüsen haben die serösen Zellen dasselbe Aussehen (Abb. 14). Das Nukleotidsystem ist in den einzelnen Drüsen etwas verschieden entwickelt. In gewissen, beispielsweise den serösen Drüsen der Zunge, war die Nukleotidmenge beim hungernden Tier ziemlich gering. Eingehendere Untersuchungen von verschiedenen Funktionsstadien der kleinen Speicheldrüsen wurden indessen nicht vorgenommen.

Im Magen unterscheiden sich die beiden Zellarten, Haupt- und Belegzellen, deutlich voneinander (Abb. 15). Die Hauptzellen zeigen eine starke Ultraviolettabsorption im Cytoplasma, während das Cytoplasma der Belegzellen diese Eigenschaft in geringem Grade besitzt. Die Absorptionsspektren (Abb. 16a und b) lassen beträchtliche Unterschiede des Nukleotidgehalts erkennen. Infolge der unregelmäßigen Form der Zellen ist es schwer, die Messungen an sicher gleichdicken Cytoplasmaschichten auszuführen. Um diese möglichst gleich zu erhalten wurden

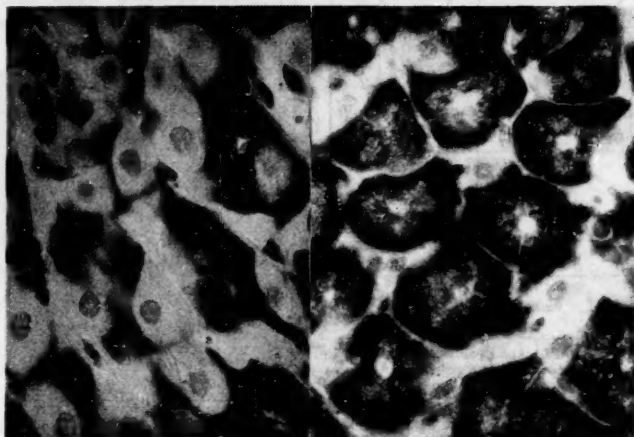


Abb. 15. Magenschleimhaut. Schwein. Sehr cytoplasmanukleotidreiche Hauptzellen abwechselnd mit nukleotidarmen Belegzellen. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 1550.

benachbarte Zellen gemessen. Wie aus den Abbildungen hervorgeht, ist die Absorption der Hauptzellen weit stärker als die der Belegzellen. Außerdem ist die Form der Kurven verschieden, woraus hervorgeht, daß das Verhältnis zwischen Nukleinsäuren und Eiweiß ein ganz anderes ist. In der Belegzelle (Kurven 2, Abb. 16a und b) beträgt die Nukleinsäurekonzentration nur einen kleinen Bruchteil der Eiweißkonzentration, in der Hauptzelle (Kurven 1, Abb. 16a und b) dagegen ist sie so hoch, daß sie mit der in den Pankreaszellen vergleichbar ist.

Die mukösen Teile der gemischten Drüsen weisen einen sehr niedrigen Gehalt an Cytoplasmanukleotiden auf (Abb. 14). In gewissen Stadien kommen solche in kleinen Mengen nahe an der Zellbasis vor; der Hauptteil des Zelleibes ist jedoch ganz frei von ihnen. In den rein mukösen Drüsen liegen die Dinge genau ebenso. Abb. 17 zeigt eine muköse Zungendrüse und Abb. 18 Absorptionsspektren vom Zelleib. Die Absorption ist so niedrig, daß nur äußerst kleine Nukleinsäurekonzentrationen vorhanden sein können. Auch Eiweißkörper mit zyklischen Aminosäuren

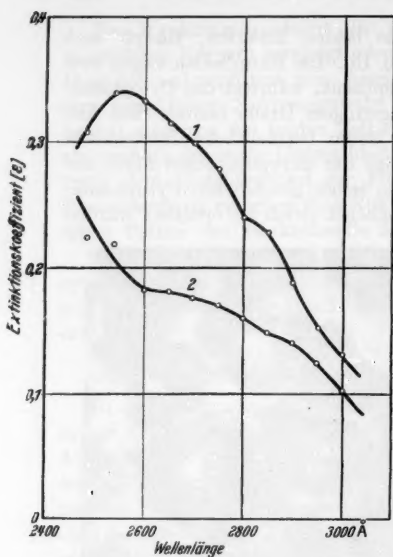


Abb. 16 a.

Abb. 16 a und b. Absorptionsspektren von im Präparat dicht aneinander liegenden Haupt- und Belegzellen.

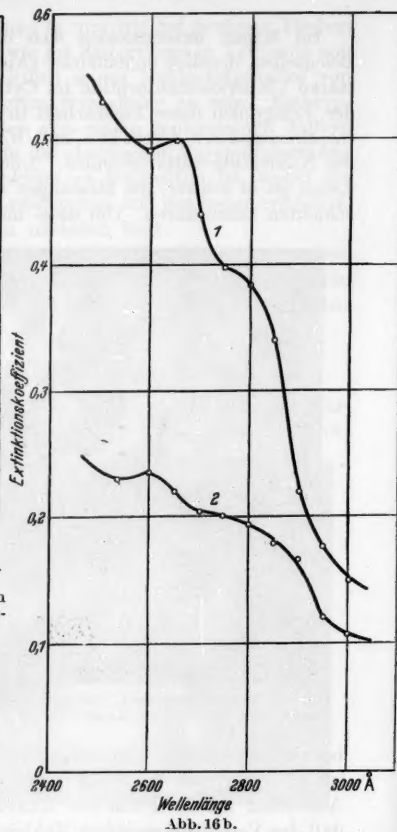


Abb. 16 b.

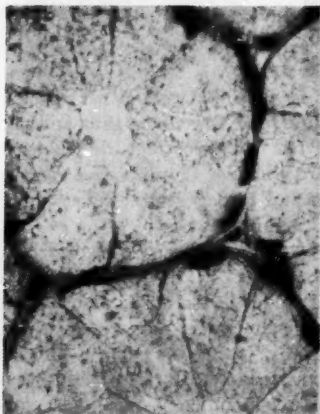


Abb. 17.

Abb. 17. Muköse Drüse von der Zunge des Kaninchens. Cytoplasma praktisch frei von absorbierenden Substanzen, nur ganz basal kleine Mengen.

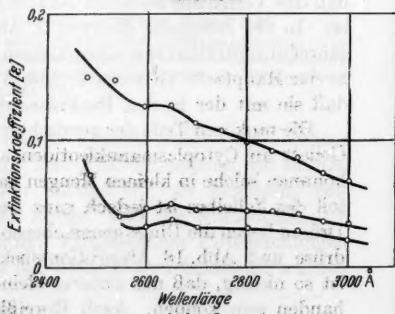


Abb. 18.

Abb. 18. Absorptionsspektren von der auf Abb. 17 dargestellten Drüse.

sind sehr spärlich vertreten. Auf Abb. 19 sieht man einige Azini der BRUNNERSchen Drüsen. Die Absorptionskurven (Abb. 20) von verschiedenen Teilen verschiedener Drüsen, jedoch nicht von der am meisten basalwärts befindlichen Schicht, machen die Abwesenheit von Nukleotiden sowie das Vorhandensein nicht unerheblicher Mengen von Eiweißstoffen

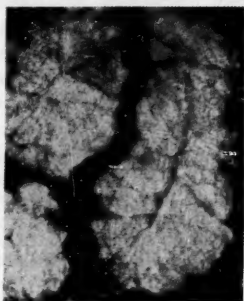


Abb. 19.

Abb. 19. BRUNNERSche Drüse vom Schwein. Sehr schwache Absorption im Hautteil des Cytoplasmas, schmaler Rand stark absorbierender Materie ganz basal. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 1550.

Abb. 20. Absorptionsspektren von der Drüse auf Abb. 19. Keine Nukleotiden, dagegen beträchtliche Mengen von Tyrosin und Tryptophan enthaltenden Eiweißstoffen.

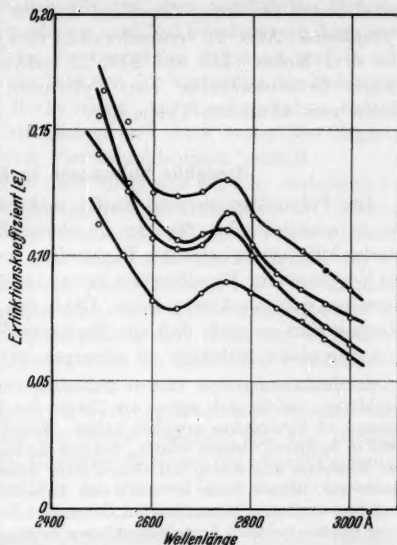


Abb. 20.



Abb. 21.

Abb. 21. Muköse Drüsenschläuche vom Kolon. Mensch. Äußerst schwache Absorption im Cytoplasma.

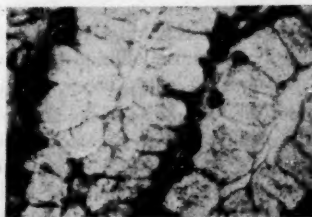


Abb. 22.

Abb. 22. Magenschleimhaut, Drüsenschläuche vom Pylorusteil. Schwein.

mit einem Absorptionsmaximum bei 2750–2800 Å ersichtlich, woraus sich ergibt, daß dieselben beträchtliche Mengen der Aminosäuren Tyrosin

und Tryptophan enthalten; letzteres zum Unterschied von den eben erwähnten mukösen Drüsen. Sonstige muköse Drüsenzellen im Darmkanal zeigen durchweg denselben äußerst geringen Nukleotidgehalt im Cytoplasma. Abb. 21 veranschaulicht dies an einigen Drüsenschläuchen aus dem Kolon. Die auf Abb. 22 sichtbare Ultraviolettphotographie einiger Drüsenschläuche vom Pylorusteil des Schweinemagens stellt Zellen vom ähnlichen Typus dar.

#### Basophile Substanzen in Drüsenzellen.

Die Polynukleotide sind starke, mehrbasische Säuren, welche, wenn sie in ausreichenden Mengen in einem Zellteil vorhanden sind, eine starke Affinität zu basischen Farbstoffen bedingen können. Ist die Menge im Vergleich zur Eiweißmenge gering, so kann indessen die Basophilie derselben ganz maskiert werden. Die in den Eiweißdrüsen vorkommenden Mengen sind so groß, daß ein Hervortreten derselben als Anhäufungen von basophiler Substanz zu erwarten ist.

R. HEIDENHAIN fand 1875 in Pankreaszellen jene eigentümlichen Stäbchenstrukturen, welche sich später als Träger des Hauptteiles der basophilen Substanzen im Cytoplasma erwiesen haben. EBERTH und MÜLLER fanden dieselben 1892 in mehreren Drüsen wieder. SOLGER beobachtete sie in der Unterkieferdrüse des Menschen und schlug auf Grund ihres Aussehens die Bezeichnung Basalfilamente vor. Dieser Name ist neben den Ausdrücken Basallamellen (ZIMMERMANN) und Ergastoplasma (GARNIER) im Gebrauch. Eine große Anzahl Forscher haben diese Gebilde bei allen Vertebratenklassen beobachtet. Sie sind in den albuminösen Drüsen unvergleichlich am besten entwickelt. GARNIER (1897) beispielsweise hat dieselben in einer großen Anzahl von verschiedenen serösen Drüsen nachgewiesen. ZIMMERMANN (1898) und PRENANT (1911) fanden sie in den Hauptzellen des Magendundus. SCHAFFER sah diese Gebilde, wenn auch schwächer entwickelt, in gewissen Schleimdrüsen.

Die Ausbildung dieses Ergastoplasmas in reichlichem Maße ist also ein Merkmal der eiweißproduzierenden Drüsenzellen. Bei verschiedenen Tieren und in den einzelnen Drüsen kann das morphologische Bild und die Menge des Ergastoplasmas erheblich schwanken, aber es ist da doch als ein konstanter Zellbestandteil vorhanden.

Der hohe Gehalt an Cytoplasmanukleotiden, welcher oben berührt worden ist, kommt auch bei gerade denjenigen Zellen vor, welche durch ein hochentwickeltes Ergastoplasma gekennzeichnet werden. So findet man diese in großen Mengen in allen untersuchten serösen Speicheldrüsenzellen einschließlich des Pankreas sowie in den Hauptzellen der Magenschleimhaut, aber im Schleim, in mukösen Zellen, in den LANGERHANSschen Inseln und in den Belegzellen des Magens fehlen sie oder sind spärlich vertreten. Die Verteilung in der Zelle mit der höchsten Konzentration nach der Basis hin stimmt auch gut überein, desgleichen der Umstand, daß sie nach Pilokarpininjektion, wenn eine intensive Drüsenfunktion eintritt, allmählich abnehmen, ohne doch gänzlich zu verschwinden. Eine niedrige Zone dicht an der Zellbasis bleibt immer bestehen.

Es erscheint folglich die Annahme berechtigt, daß es Pentosenukleotide seien, welche die charakteristische Basophilie des Ergastoplasmas bedingen. Dies braucht natürlich aus den oben angeführten Gründen nicht zu bedeuten, daß Ergastoplasma und Nukleinsäureverteilung stets übereinstimmen. Die Verteilung der basophilen Substanz muß in sehr groben und verzerrten Zügen ein Bild von der Verteilung der Nukleotide geben; man scheint aber ein Recht zu der Annahme zu haben, daß die Zelle bei Entwicklung eines reichlichen und stark basophilen Ergastoplasmas eine große Menge von Pentosenukleotiden enthält.

Da das Ergastoplasmasystem nach allem was ein sehr umfangreiches Beobachtungsmaterial ergeben hat (siehe z. B. GARNIER 1899, ZIMMERMANN 1927), gerade für eiweißproduzierende Zellen so außerordentlich charakteristisch zu sein scheint, so liegen sehr starke Gründe für die Annahme vor, daß das Vorkommen großer Mengen von Pentosenukleotiden im Cytoplasma für eiweißproduzierende Zellen kennzeichnend ist.

Die Beziehung zwischen Ergastoplasma und Sekretion ist vielfach erörtert worden. Daß das Ergastoplasma im Laufe der verschiedenen Phasen des Sekretionszyklus verändert wird, ist sicher festgestellt. Wenn die Zelle in kurzer Zeit große Sekretmengen ausstößt, beispielsweise nach Pilokarpinreizung, nimmt die Menge desselben ab. Die Bezeichnung Ergastoplasma wurde von GARNIER als Ersatz für „Basalfilamente“ eingeführt, ein Ausdruck, welcher ja nur auf den morphologischen Charakter hinzielt, um hervorzuheben, daß die Faserstrukturen der Ausdruck einer speziellen Funktion des Cytoplasmas wären. Ob die Zymogengranula aus diesen Strukturen oder mit Hilfe derselben entstehen, hat sich nicht konstatieren lassen. GARNIER nimmt in seiner Ergastoplasmatheorie an, daß ein enger Zusammenhang zwischen diesen Strukturelementen besteht.

Ob der morphologische Charakter des Ergastoplasmas, die Zusammensetzung aus linearen oder lamellären Elementen, durch eine wirkliche, mikroskopisch sichtbare Struktur bedingt wird oder ein Artefakt ist, das von einer besonderen Neigung der sauren Substanzen in den basalen Zellteilen in Gestalt von Fäden oder Lamellen auszufallen verursacht wird, ist ebenfalls Gegenstand der Erörterung gewesen, wobei die letztere Ansicht am besten begründet erscheint (BENSLEY 1911, DOLLEY 1925, SAGUCHI 1920). Im Ultraviolettmikroskop können in Freezing-drying-behandelten Präparaten in vereinzelt Fällen gröbere Faserstrukturen sichtbar werden. Die feine Anordnung in Form von Filamenten konnte indessen niemals beobachtet werden. Das schließt selbstverständlich eine solche nicht aus, da doch denkbar ist, daß ein Teil der Substanz linear angeordnet ist, während der dazwischenliegende ungeordnet ist, aber denselben Nukleotidgehalt hat. In einem derartigen Falle müßte natürlich das Ultraviolettbild homogen werden, während das Färbungsbild, welches ja auch von dem Sättigungsgrad der Nukleinsäure mit Eiweiß beeinflußt wird, inhomogen sein könnte. Eine solche Annahme

erscheint jedoch ziemlich gekünstelt. In Präparaten, in denen bei Hämatoxylinfärbung feine Basalfibrillen hervortreten, ließen sich mittels Ultraviolettmikroskopie keine solchen entdecken. Dagegen stimmt die allgemeine Verbreitung der Filamentstrukturen in der Zelle gut mit der Verteilung der stark absorbierenden Substanz überein. Die wahrscheinlichste Erklärung scheint folglich die zu sein, daß der nukleinsäurehaltige Teil eine besondere Tendenz hat, sich bei Fixierung oder Färbung in Faserstrukturen anzuordnen. Hierin muß sich ein Aufbau aus Lamellen widerspiegeln, was mit der unten entwickelten Ansicht, daß dort eine Eiweißbildung unter Vermittlung von Nukleinsäuren stattfindet, wohl zu vereinbaren ist. Ein derartiger Vorgang wird, wie man, gestützt auf ASTBURY und BELLS (1938) Messungen der Periode in der Nukleinsäurekette mit gewisser Wahrscheinlichkeit annehmen muß, von hochpolymerisierten Nukleinsäureketten vermittelt.

### Erörterung.

Der Umstand, daß in dem untersuchten Material Ergastoplasmaentwicklung und Gehalt an cytoplasmatischen Nukleotiden so intim Hand in Hand gehen, daß die Lokalisation in der Zelle übereinstimmt, sowie daß beide basische Farbstoffe stark binden, macht es, wie oben betont wurde, höchstwahrscheinlich, daß es die Nukleinsäuren sind, welche die charakteristische Färbbarkeit des Ergastoplasmas bedingen. Umgekehrt kann also der Schluß gezogen werden, daß dort, wo eine wohlentwickelte Ergastoplasmaorganelle vorhanden ist, das Vorkommen großer Mengen von cytoplasmatischen Nukleinsäuren zu erwarten steht. Die Ausbreitung des Ergastoplasmas ist vielfach untersucht und in einer großen Anzahl von Arbeiten beschrieben worden, aus welchen hervorgeht, daß ein gut ausgebildetes Ergastoplasma für die eiweißproduzierenden Drüsenzellen kennzeichnend ist<sup>1</sup>.

In sämtlichen Zellen, welche im Laufe der vorliegenden Arbeit untersucht worden sind und in den hohen Nukleotidkonzentrationen auftreten, kann man mit histologischen Färbungsmethoden ein klares Ergastoplasma erhalten. Am besten entwickelt ist letzteres in denjenigen Organen, welche eine besonders hohe sekretorische Aktivität entfalten, beispielsweise im Pankreas. Besonders auffallend ist die Verschiedenheit des Nukleinsäuregehaltes in den exokrinen und endokrinen Teilen der Bauchspeicheldrüse. In diesem Fall handelt es sich um zwei Zelltypen, welche von einer gemeinsamen Anlage abstammen und

<sup>1</sup> Die Grenze zwischen Ergastoplasma und andersartiger Chromidialsubstanz ist bisweilen schwer zu ziehen (vgl. beispielsweise die Untersuchungen von BOUIN an Pflanzenmaterial). Die Untersuchung der Nukleinsäureverteilung ergibt, daß diese in vielen Fällen mit der Verteilung der sogenannten Chromidialsubstanz zusammenfällt. Das ist jedoch bei weitem nicht immer der Fall. Cytoplasmatische Nukleinsäuren kommen in großem Umfang in Material vor, welches „Chromidialsubstanz“ vermissen läßt, und die Begriffe können keineswegs als homolog aufgefaßt werden.



demzufolge sehr nahe verwandt sind, die aber verschiedene Funktion haben, indem die exokrinen Zellen in ihrer Eigenschaft als Eiweißdrüse eine sehr starke Sekretion zu leisten haben, während den endokrinen eine solche Aufgabe nicht zufällt. Von bekannten Produkten ist zwar das Insulin ein Eiweißkörper, aber die Menge, welche erzeugt wird, ist im Vergleich zu den Sekretmengen der exokrinen Zellen verschwindend gering.

Daß es sehr große Eiweißmengen sind, welche in der nukleinsäurereichen Bauchspeicheldrüse produziert werden, geht aus dem hohen Gehalt untersuchter Saftproben sowie aus der großen Tagesproduktion von Pankreassaft hervor. Es ist natürlich schwer, irgendwelche bestimmtere Angaben über die Eiweißproduktion in 24 Stunden zu erhalten, aber der Größenordnung nach muß es sich um 10; auch 20% des Trockengewichtes der Drüse handeln, also um eine enorme Eiweißsekretion. Auch für die Speicheldrüsen der Mundhöhle liegen gewisse Bestimmungen vor (FELDER 1916, BERGER 1918), welche gleichfalls einen hohen Eiweißgehalt des Sekrets ergeben haben.

Bei den schleimerzeugenden Drüsen ist es nicht möglich, zu ähnlichen Daten zu gelangen. Die Sekretmengen, welche produziert werden, dürften innerhalb weit engerer Grenzen liegen, und außerdem enthält die abgesonderte Flüssigkeit oft Eiweißstoffe von anderer Art als diejenigen, welche im Sekret seröser Drüsen auftreten. Wenigstens in gewissen Stadien des Sekretionszyklus findet man Cytoplasmanukleotide.

Das Vorkommen hoher Konzentrationen von Cytoplasmanukleinsäuren scheint also für eiweißproduzierende Drüsenzellen charakteristisch zu sein. Derartige Wechselbeziehungen zwischen Nukleinsäuremenge und Eiweißbildung weist auch anderes Material auf (siehe weiter CASPERSSON 1941). Was speziell das Cytoplasma betrifft, so wiesen CASPERSSON und SCHULTZ (1938) in rasch wachsenden Zellen verschiedenen Ursprungs hohe Konzentrationen von Nukleinsäuren im Cytoplasma nach. Gewisse Zellen, welche nicht weiterwachsen, enthalten ebenfalls hohe Konzentrationen, nämlich die Ei- und die Nervenzelle (LANDSTRÖM, CASPERSSON und WOHLFART, 1941). Diese Zellen zeichnen sich indessen durch ihre Größe aus, sie haben eine Periode intensiven Wachstums hinter sich, während der die Nukleinsäuren gebildet wurden. Eine einfache Beziehung zur Teilungsfrequenz kann folglich nicht bestehen, sondern es ist wahrscheinlicher, daß die Vermehrung der Zellsubstanz derjenige Prozeß ist, in welchen die Nukleinsäuren eingreifen. Am wahrscheinlichsten ist da natürlich eine Funktion bei dem Eiweißumsatz, und dies wird von den hier angeführten Beobachtungen stark gestützt. Der einzige Faktor, welchen sich rasch teilende und wachsende Zellen, z. B. Embryonalmaterial, Ei-, Nerven- und Eiweißdrüsenzellen, offenbar gemeinsam haben, ist der schnelle Aufbau von Eiweißsubstanzen.

In der Mehrzahl dieser Zellen tritt sehr deutlich hervor, wie die Cytoplasmanukleinsäuren zunächst rings um die eigentliche Kernmembran aufzutreten scheinen (früher von CASPERSSON und SCHULTZ

nachgewiesen), was mit großer Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß die Kernmembran der Entstehungsort derselben ist. In der pilokarpinierten, stark tätigen Drüse ist auffallend, wie erheblich die Kernmembran ultraviolettes Licht absorbiert (vgl. Abb. 4 und 5). Dieselbe tritt in vielen Zellen als eine dicke nukleinsäurehaltige Hülle hervor, außerhalb welcher hohe Konzentrationen von Pentosenukleotiden liegen. Diese Beobachtungen machen wahrscheinlich, daß auch in diesem Falle an der Kernmembran Cytoplasmanukleotide gebildet werden; ob das aber für alle cytoplasmatischen Nukleotide zutrifft, oder ob ein Teil derselben basal im „Ergastoplasma“ entsteht, dies entzieht sich noch unserem Urteil. Das Verhältnis zwischen Kern, Nukleolus und Ergastoplasma ist von verschiedenen Autoren eingehend erörtert worden; besonders GARNIER glaubt einen engen Zusammenhang zwischen diesen Organellen nachgewiesen zu haben. Das bei unseren Untersuchungen zur Verfügung stehende Vertebratenmaterial eignet sich nicht zur Prüfung dieser Verhältnisse mittels Ultraviolettabsorptionsmessungen.

In denjenigen Absorptionsspektren, welche von mit Pilokarpin stimulierten Drüsen stammen, sowie bei einzelnen Messungen an ausgehungerten Tieren, tritt eine deutliche Zweigipfeligkeit der Absorptionskurve hervor. Eine solche ist bereits früher bei anderem Zellmaterial beobachtet worden (Einzelheiten siehe bei CASPERSSON 1940), und es wurde nachgewiesen, daß basische Eiweißkörper, Histone, wenn sie zusammen mit Nukleotiden vorkommen, Kurven von diesem Typ entstehen lassen können. Bei in intensiver Tätigkeit befindlichen Zellen scheint also der Gehalt an derartigen Substanzen mit dem Absorptionstyp der Histone besonders hoch zu sein.

Im Basalteil von Zellen ausgehungelter Tiere, wo die Nukleotidkonzentration am größten ist, tritt eine deutliche Absorption vom Histontyp hervor (Abb. 3). Weiter oben in der Zelle verschwindet diese und wird vom Absorptionstyp des Sekreteiweißes ersetzt. Wird die Zelle mit Pilokarpin zu starker Tätigkeit gereizt, so wird das Eiweißband vom Histontyp weit ausgeprägter, aber nach wie vor sind es die basalen, nukleotidreichsten Teile, welche die höchsten Konzentrationen aufweisen. Diese Substanzen sind also speziell an denjenigen Stellen der Zelle lokalisiert, wo die Wahrscheinlichkeit einer Eiweißbildung am größten ist, welche von einem Nukleinsäuremechanismus vermittelt wird, und sind außerdem in den größten Mengen anwesend, wenn die Zelle exzessiv fungiert, was für eine spezielle Funktion bei diesem Prozeß spricht.

Derartige Substanzen sind früher in anderen Zellen an solchen Orten beobachtet worden, wo cytoplasmatische Nukleotide gebildet werden, und außerdem innerhalb des Zellkernes im Nukleolus und in den heterochromatischen Chromosomenregionen, für welche geschlossen worden war, daß sie in den Mechanismus eingeschaltet sind, der die Bildung der Cytoplasmanukleotide bedingt. Von Interesse ist ferner, daß das Gensystem während der Metaphase von einem System getragen zu

werden scheint, welches zum wesentlichen Teil aus nukleinsäurem Histon besteht. Es ist auffallend, wie also in sämtlichen Fällen, wo eine Eiweißbildung unter Vermittlung von Nukleinsäuren stattfindet, Eiweißkörper vom Absorptionscharakter der Histone anwesend sind. Ob es die Aufgabe derselben ist, die Muttersubstanzen für Nukleinsäuren abzugeben, ob ihnen eine spezielle Aufgabe beim eigentlichen Eiweißaufbau zufällt, oder ob sie schließlich diese beiden Funktionen auszuüben haben, das läßt sich bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse nicht entscheiden.

#### Zusammenfassung.

Durch Messung des Ultraviolettabsorptionsspektrums wurden in serösen Drüsenzellen hohe Konzentrationen von Pentosenukleinsäuren nachgewiesen, welche im Cytoplasma, besonders in den basalen Teilen, lokalisiert sind. Die Verteilung dieser Substanzen weist eine gute Übereinstimmung mit dem GARNIERschen „Ergastoplasma“ auf, weshalb die ausgeprägte Basophilie des letzteren von diesen Nukleinsäuren verursacht werden dürfte. Große Mengen von Cytoplasmanukleotiden sind für eiweißproduzierende Drüsenzellen charakteristisch. Dieses Verhalten macht es zusammen mit anderen früheren Beobachtungen wahrscheinlich, daß *cytoplasmatische Nukleotide eine spezielle Funktion bei der Produktion von Eiweißstoffen im Cytoplasma haben*. Die Möglichkeit, daß auch andere Prozesse durch ähnliche Systeme vermittelt werden, wird natürlich durch diese Resultate noch nicht ausgeschlossen.

#### Literatur.

- Asbury and Bell: Nature (Lond.) 141, 747 (1938). — Bang, I.: Z. physiol. Chem. 26, 133 (1898); 31, 411 (1901). — Bensley, R. R.: Amer. J. Anat. 12 (1911). — Berger: Diss. Zürich 1918. — Caspersson, T.: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) Suppl. 73 (1936). — J. roy. microsc. Soc. 60, 8 (1940). — Chromosoma 1, 147, 562 (1939/40). — Naturwiss. 29, 33 (1941). — Caspersson, T. and J. Schultz: Nature (Lond.) 142, 294 (1938); 143, 602 (1939). — Dole, D.: Amer. J. Anat. 35, Nr 2 (1925). — Eberth, G. u. K. Müller: Z. wiss. Zool. 53, Suppl., 112 (1892). — Felder: Diss. Zürich 1916. — Feulgen, R.: Z. physiol. Chem. 107, 147 (1919). — Garnier, Ch.: Bibliogr. Anat. 5, 278 (1897). — Thèse Nancy, 1899. — Gersh, I.: Anat. Rec. 53, Nr 3, 309 (1932). — Hammarsten, E.: Z. physiol. Chem. 109, 141 (1920). — J. of biol. Chem. 43, Nr 1 (1920). — Biochem. Z. 144, 383 (1924). — Hammarsten, E., G. Hammarsten u. H. Olivecrona: Acta med. Scand. (Stockh.) 68, 215 (1928). — Hammarsten, E. u. E. Jorpes: Z. physiol. Chem. 118, 224 (1922). — Acta med. Scand. (Stockh.) 68, 205 (1928). — Hammarsten, O.: Z. physiol. Chem. 19, 19 (1894). — Heidenhain, R.: Pflügers Arch. 10, 557 (1875). — Jorpes, E.: Biochem. Z. 151, 227 (1924). — Acta med. scand. (Stockh.) 68, 253, 503 (1928). — J. of biol. Chem. 86, Nr 2, 469 (1930). — Landström, H., T. Caspersson u. G. Wohlfart: Z. mikrosk. Anat. 1941. — Levene, P. A.: Z. physiol. Chem. 32, 541 (1901); 37, 402 (1903); 39, 4 (1903); 43, 199 (1904); 53, 441 (1922). — Möllendorff, W. v.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. V, Teil 1. 1927. — Prenant, A.: J. de l'Anat. et de Physiol. 46 (1910). — Saguchi, S.: Amer. J. Anat. 26, 347 (1919). — Schaffer, J.: Sitzb.ber. Akad. Wien. Mathem.-naturwiss. Kl. III 106 (1898). — Solger, B.: Anat. Anz. 9, 415, 455 (1894). — Zimmermann, K. W.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen von v. Möllendorff, Bd. V, Teil 1, S. 61, 1927.

(Aus der Chemischen Abteilung des Karolinischen Instituts, Stockholm.)

## DER ENDOZELLULÄRE EIWEISS- UND NUKLEINSÄURE-STOFFWECHSEL IN EMBRYONALEM GEWEBE.

Von

T. CASPERSSON und B. THORELL.

Mit 13 Textabbildungen (14 Einzelbildern).

(Eingegangen am 21. Juni 1941.)

### Inhalt.

	Seite
Makrochemische Untersuchungen . . . . .	132
Nukleinsäuren . . . . .	133
Eiweißkörper . . . . .	134
Experimentelle Untersuchungen . . . . .	136
Material . . . . .	136
Cytoplasmanukleotide . . . . .	137
Eiweißkörper . . . . .	144
Absorptionsspektrum der hexonbasenreichen Eiweißkörper . . . . .	145
Erörterung der Eiweiß- und Nukleinsäureverteilung im Embryo . . . . .	148
Einige cytologische Beobachtungen . . . . .	150
Schlußübersicht . . . . .	153
Literaturverzeichnis . . . . .	154

In vorangehenden Arbeiten (CASPERSSON 1940, 1941) über die Rolle des Zellkerns und der Nukleinsäuren beim Eiweißstoffwechsel der Zelle wurden die Verhältnisse in embryonalen Zellen gestreift. Dabei wurden auch gewisse der unten angeführten, erst jetzt veröffentlichten Daten referiert.

### Makrochemische Untersuchungen.

#### *Nukleinsäuren.*

Die älteren Untersuchungen über den Nukleinsäurestoffwechsel des embryonalen Gewebes waren hauptsächlich mit rein chemischen Methoden durchgeführt worden, und Versuche, zwischen den einzelnen Teilen der Zelle zu differenzieren, wurden kaum jemals gemacht. Ein hoher Nukleinsäuregehalt wurde ohne weiteres als ein Zeichen für große Mengen von Kernmaterial akzeptiert (z. B. MASING 1911). Bei Untersuchungen mit Methoden desselben Charakters, wie die unten angewendeten, beobachteten SCHULTZ und der Verfasser (1939/1940) in aus verschiedenen Quellen stammendem Material, welches von raschem Wachstum gekennzeichnet wurde, unter anderem bei einem Pflanzenembryo, daß die Cytoplasmen der Zellen durchgehends große Pentosenukleinsäuremengen enthielten, und schlossen aus den Beobachtungen, daß dies für alle Zellen in rasch wachsenden Geweben charakteristisch wäre. Das

führte unter anderem zu der Vermutung, daß die allgemeine Basophilie, welche man in embryonalen Geweben sieht, durch hohe Konzentrationen von Nukleinsäuren verursacht wird.

Der Embryo besitzt, ebenso wie der erwachsene Organismus, die Fähigkeit, diejenigen Gruppen zu bilden, welche besonders charakteristisch für die Nukleinsäuren sind. TICHOMIROFF (1885) wies das zuerst für *Bombyx* nach, KOSSEL (1886) fand dasselbe Verhalten beim Hühnerei. Diese Befunde sind dann von einer Reihe von Untersuchern (FREDERICA 1912, MENDEL und LEAVENWORTH 1908, TERROINE und MOUROT 1931, MELKA 1933, SAGARA 1928, CALVERY 1928, VOSS 1933) bestätigt und erweitert worden. Die Pyrimidinbasen wurden nicht untersucht, vor allem wohl infolge von Analyseschwierigkeiten. Ein prinzipieller Grund für die Annahme, daß sie sich anders verhalten würden, scheint indessen nicht vorzuliegen. MENDEL und LEAVENWORTH wiesen in ihrer oben zitierten Arbeit auch nach, daß während der Bebrütung von Hühnereiern der Pentosegehalt stieg. Der dritte von den Bestandteilen der Nukleinsäure, die Phosphorsäure, ist von MASING (1911) untersucht worden. Dieser Autor wies an Kaninchenembryonen nach, daß, während die Gesamtmenge von Nukleinsäurephosphor im Embryo bei der Entwicklung desselben zunahm, das Verhältnis zwischen dem Nukleinsäurephosphor und dem Gesamtstickstoff statt dessen kleiner wurde. Diese Verschiebung war groß, die Menge des Nukleinsäurephosphors in einer Einheitsmenge Stickstoff betrug bei einer Reihe von Embryonen aus dem ersten Teil der Trächtigkeit 20,3 und bei dem neugeborenen Kaninchen 11,7.

Diese Untersuchungen zeigen also, daß von den frühesten Embryonalstadien an im Embryo Nukleinsäuren gebildet werden. Die Untersuchungen von MASING ergeben, daß diese Substanzen während des früheren Teils der Embryonalentwicklung prozentual eine größere Rolle spielen als später.

Gelegentlich dieser Untersuchungen ist auch die Frage der nächsten Muttersubstanzen für die Purinsynthese erörtert und auch mit Stoffwechselversuchen beleuchtet worden. Dabei hat sich ergeben, daß Histidin mit größter Wahrscheinlichkeit eine Muttersubstanz ist. Auch Arginin dürfte als eine solche fungieren, die Rolle desselben ist jedoch strittig (ACKROYD und HOPKINS 1916, ROSE und COOK 1925, 1926, STEWART 1925, GYÖRGYI und THANNHAUSER 1928). Inwieweit auch andere Substanzen beteiligt sind, ist noch unbekannt. Im Zusammenhang mit den unten angeführten Resultaten ist es von einem gewissen Interesse, daß gerade das Histidin und Arginin, welche den Hauptteil der Aminosäuren darstellen, deren Vorkommen in großen Mengen den basischen Eiweißkörpern ihren Charakter verleiht, eine spezielle Rolle zu spielen scheinen.

*Eiweißkörper.*

Die früheren Studien der Veränderungen in den Eiweißstoffen während der Embryonalentwicklung bezogen sich namentlich auf die Gesamtmenge der Eiweißsubstanzen. BYWATERS (1913) versuchte indessen, zwischen koagulierbarem und nichtkoagulierbarem Eiweiß im Eiklar zu unterscheiden.

Sehr eingehende Untersuchungen an einem großen Analysenmaterial sind von E. G. SCHENCK (1932) ausgeführt worden. Die Anregung zu denselben gaben die für unsere Anschauungen über den Eiweißstoffwechsel in der Zelle grundlegenden Arbeiten, welche von KOSSEL und seinen Mitarbeitern stammen und die Umwandlung höherer Eiweißkörper in einfachere basische während der Spermienreifung in Fischtestikeln behandeln (siehe KOSSEL und SCHENCK 1928). Im Zusammenhang mit Beobachtungen, welche zu ergeben scheinen, daß dieser Eiweißumbau ein bei jeder Zellteilung auftretendes Phänomen ist, sind jene Untersuchungen früher in dieser Zeitschrift referiert worden (CASPERSSON 1940).

SCHENCK (1932) analysierte die verschiedenen Teile des Hühnereies nach verschiedener Bebrütungsdauer und führte eine sehr große Anzahl von Aminosäureanalysen an diesen Fraktionen durch, wobei das Hauptgewicht auf die basischen Aminosäuren gelegt wurde. Durch Vergleich der Aminosäureverteilung in den einzelnen Eiweißfraktionen der verschiedenen Eiteile, Eiklar, Eidotter, Embryo und Eischalenhaut, war es möglich, die Hauptzüge des Eiweißumbaues zu verfolgen. Von den zahlreichen Beobachtungen sind die unten angeführten für die folgende Arbeit besonders wichtig. Fertige Eiweißstoffe werden nicht in das Körpereiß des Embryos aufgenommen. Die Eiweißkörper des Eiklars und Eidotters werden, bevor sie vom Embryo aufgenommen werden können, zu Polypeptiden und Aminosäuren umgewandelt und abgebaut. Das früheste Stadium, in welchem der Embryo einen so großen Teil des Eies ausmacht, daß derselbe für sich analysiert werden kann, tritt am 6.—7. Bebrütungstage ein. Hierbei trat deutlich hervor, daß — wie SCHENCK schon früher für jugendliches Gewebe im allgemeinen angegeben hatte — sich das Eiweiß desselben durch einen höheren Gehalt an Histidin, Arginin und Lysin vor anderem auszeichnet, und daß dieser hohe Hexonbasengehalt im Laufe der Entwicklung nach und nach verlorengeht. Am 6.—7. Bebrütungstage, wo der Embryo zum ersten Male separat analysiert werden konnte, machte der Hexonbasenstickstoff nahezu 38% des Gesamtstickstoffes aus, was ein höherer Wert ist als alle anderen jemals im Dotter bestimmten. „Der Argininwert ist erhöht, auffälliger aber ist ein außerordentlich starker Histidingehalt, wie er ebenfalls nie vorher gefunden wurde. Das sind neben einem hohen Tyrosin- und niedrigen Tryptophangehalt zunächst die Hauptmerkmale des jüngsten embryonalen Gewebes“ (l. c. S. 136). Am 9. Tage war der Hexonbasengehalt gesunken, namentlich auf Kosten des Histidins, während Arginin



und Lysin fast unverändert waren. In einem Embryo vom 12. Tage lag der Hexonbasengehalt etwas höher (2%), woraus SCHENCK auf eine Zunahme schließt. Während der 3 folgenden Tage wird die Körpermasse des Embryos fast verzehnfacht und gleichzeitig sinkt der Hexonbasenstickstoff stark (9%), wobei der Hauptverlust (7%) auf das Histidin entfällt. Während des weiteren Wachsens gehen große Veränderungen in der Zusammensetzung der Proteine vor sich, so daß bei der Schlupfreife am 20. Tage die eben erwähnten Merkmale des embryonalen Gewebes allmählich verschwinden. Das Histidin sinkt weiter stark. Das Tyrosin fällt von etwa 5% bei einem Embryo von 6—7 Tagen bis auf etwa 3% bei einem solchen von 18—20 Tagen.

Bei der Bebrütung scheinen sich aus dem Nahrungseiweiß des Eies zunächst hexonbasenreiche Eiweißstoffe zu bilden. In dem „flüssigen Dotter“, welcher frühzeitig rings um den Embryo entsteht, denselben bis zum 9. Tage umgibt, und aus dem der Embryo wohl seine Baustoffe aufnimmt, ist in der Albuminfraktion besonders viel Histidin und Arginin vorhanden, und in der entsprechenden Globulinfraktion viel Histidin und Lysin. Es scheint also, als ob die Nahrungseiweißstoffe so umgebaut würden, daß der Hexonbasengehalt zunimmt, und zwar als eine Vorbereitung dafür, daß diese Material zum Aufbau der hexonbasenreichen Proteine des Embryos liefern sollen. Die Aufnahme von hexonbasenreichen Peptidkomplexen geht bis zum 9. Tage weiter. Später weist das Eiweiß in der Nähe des Embryos keinen besonderen Hexonbasenreichtum auf, und der Embryo nimmt aus dem Dottereiweiß sogar Teile von niedrigem Hexonbasengehalt auf, so daß eine Anreicherung derselben, in beispielsweise dem Vit lin, stattfinden kann.

SCHENCK hat auch die Eiweißbildung im Ovarium und dem Eileiter untersucht. Die Verhältnisse lassen sich da schwerer übersehen. Dieselbe Konstellation von Eiweißkörpern wie im bebrüteten Ei tritt hier auf: Albumin, Vitellin und ein Nukleoproteid, welche zusammenwirken und in gewisser Weise Gruppen auszutauschen scheinen. Aus dem relativ hexonbasenreichen Eiweiß im Eierstock und Eileiter wird das daran ärmere Dottereiweiß gebildet.

Faßt man die für die vorliegende Arbeit wichtigen Punkte zusammen, so kann man sagen, daß, wie SCHENCKs Arbeiten ergeben haben, *embryonales Gewebe, wie jugendliches Gewebe im allgemeinen, von seinem Reichtum an Hexonbasen, d. h. an Histidin, Arginin und Lysin, gekennzeichnet wird.* Im Hühnerembryo, welcher zwischen dem 3. und 10. Tage von einigen Zentigramm auf 2—3 g (FRIDERICIA), also mit enormer Geschwindigkeit, wächst, sind die Eiweißstoffe während dieser Periode außerordentlich reich an Hexonbasen. Der Hexonbasenstickstoff macht am 6. bis 7. Tage nahezu 40% des Gesamtstickstoffes aus. Zum Aufbau dieser Eiweißkörper werden vom Dotter Eiweißgruppen mit hohem Hexonbasengehalt geliefert. Während des späteren Teiles der Entwicklung



verliert das Eiweiß allmählich seinen hohen Hexonbasengehalt, seinen embryonalen Charakter. Diese Veränderungen werden zum größten Teil von Verschiebungen im Histidingehalt bedingt.

### Experimentelle Untersuchungen.

#### *Material.*

Die chemischen Purinbasenuntersuchungen sind von den einzelnen Autoren an einer Anzahl von verschiedenen Objekten mit denselben Resultaten durchgeführt worden, was zeigt, daß wenigstens in dieser Beziehung die Verhältnisse innerhalb weitbegrenzter Gruppen von Organismen gleichartig sind. In bezug auf den Eiweißstoffwechsel stehen Untersuchungen an anderem Material als dem Hühnerembryo noch aus, aber zur Zeit scheint kein Grund eine Annahme, daß diese keine allgemeinere Gültigkeit besäßen, positiv zu stützen. Da außerdem die zytologischen Verhältnisse sowie der Verlauf der Embryonalentwicklung beim Hühnerembryo unvergleichlich am besten bekannt sind, wurde dieser als Objekt gewählt.

Das Material bestand aus frischen Hühnerfarmeiern. Die Bebrütung erfolgte bei 38° in einem Brutapparat mit kontinuierlich zirkulierender Frischluft mit 80% relativer Feuchtigkeit. Nur ganz vereinzelte Eier entwickelten sich nicht. Die Embryonen wurden teils nach dem Freezing-drying-Verfahren von GERSH und teils in Formalin fixiert. In bezug auf Angaben über die weitere Behandlung der Präparate sowie die Technik bei der Aufnahme der Absorptionsspektren wird auf eine frühere Arbeit<sup>1</sup> verwiesen.

Folgende Gesichtspunkte bestimmten die Wahl von Embryonalstadien zur Untersuchung: Den SCHENCKschen Daten nach hat das Embryonaleiweiß vor dem 10. Tage den ausgeprägtesten „embryonalen Charakter“. Nach diesem Zeitpunkt beginnt die Umwandlung in einen erwachseneren Eiweißtyp. FRIDERICIA (1912) teilt die Embryonalentwicklung in 4 Perioden ein. Während der 2. Periode in diesem Schema, welche sich vom 3.—4. bis zum 10.—11. Tage erstreckt, findet das verhältnismäßig allerschnellste Wachsen statt, indem das Gewicht des Embryos von einigen Zentigramm auf etliche Gramm steigt. Während dieser Zeit ist der Stickstoffgehalt des Embryos ungefähr konstant; nach dem 10. Tage steigt dieser indessen nach und nach. Auch andere Zeichen eines Abschlusses der ersten Differenzierungsprozesse werden beobachtet, so beginnen beispielsweise die ersten Spuren von Harnsäure aufzutreten. Zwischen dem 2. und 10. Tage laufen also die primären Differenzierungsprozesse ab, und es geht das erste, enorm rasche Organwachstum vor sich. Die vor 10 Tage liegenden Stadien erscheinen folglich am geeignetsten für die Untersuchung. Die Embryonen wurden daher nach einer Bebrütung von 3—8 Tagen entnommen, und soweit Vergleiche mit älterem Material angestellt wurden, handelt es sich um solches von einem eben ausgeschlüpften Küchlein.

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: *Chromosoma* 1, 562 (1940).

*Cytoplasmanukleotide.*

Im Ultraviolettmikroskop bei  $257\text{ m}\mu$ , d. h. nahe am Nukleinsäureabsorptionsmaximum, erscheint das Cytoplasma der embryonalen Zellen allgemein stärker absorbierend als in Zellen des ausgeschlüpften Küchleins.

**Leber:** Die Zellen haben bei einem Embryo vom 6. Tage eine so starke Cytoplasmaabsorption, daß sie in  $5\mu$  dicken Schnitten auf der Photographie fast ganz dunkel aussehen (Abb. 1). Abb. 2 zeigt eine Anzahl von Absorptionsspektren aus Gebieten mit einer Oberfläche von etwa  $1/\mu^2$  in den Cytoplasmen dreier beliebig herausgegriffener Zellen. Die Absorptionskurven weisen eine starke  $2600\text{ Å}$ -Bande auf, welche einem hohen Gehalt an Cytoplasmanukleinsäuren entspricht. Die Extinktionen erreichen 0,5 bis 0,6, und die enthaltene Eiweißkomponente macht sich auf der Kurve lediglich als

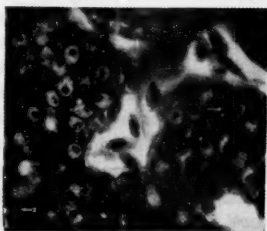


Abb. 1. Leber eines 6tägigen Hühnerembryos. Wellenlänge  $2570\text{ Å}$ , Vergr. 550fach.

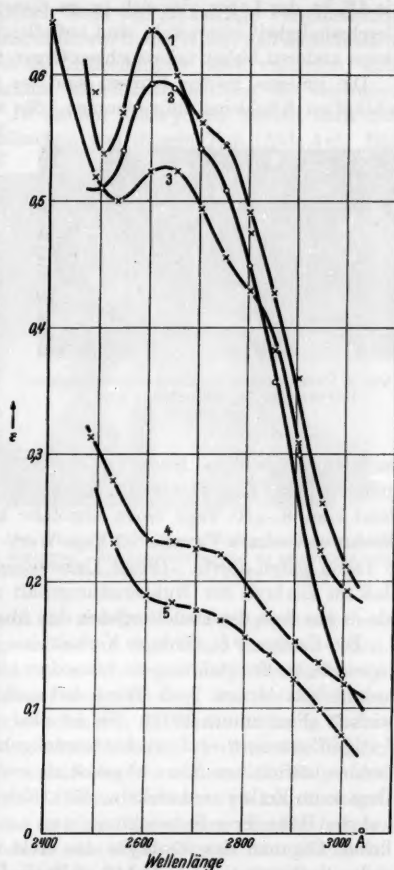


Abb. 2. Absorptionsspektren von Punkten im Cytoplasma von Leberzellen. Kurve 1: 3tägiger, Kurve 2 und 3: 6tägiger Embryo, Kurve 4 und 5: eben ausgeschlüpftes Küchlein.

eine schwach hervortretende Ausbiegung der Kurve bei etwa  $2800\text{ Å}$  bemerkbar. Die Höhe des Absorptionsmaximum entspricht einem Nukleinsäuregehalt des lebenden Zellteils von 2–4%. Während die Cytoplasmen

sehr nukleinsäurereich sind, mit den höchsten Konzentrationen nahe an der Kernmembran, sind die Kerne ziemlich arm an Nukleinsäure. Die Hauptmenge liegt im Nukleolus und im Chromozentrum. Diese Mengen, bis 4% in der Leber, die sich ja an diesem Zeitpunkt mit sehr großer Geschwindigkeit entwickelt, sind auffallend hoch und dürften kaum von einem anderen bisher untersuchten Organ übertroffen werden.

Die unteren beiden Kurven sind an der Leber eines eben ausgeschlüpften Küchleins aufgenommen. Sie zeigen eine bestimmt niedrige Nukleotidkonzentration im Cytoplasma (vgl. die vorangehende Arbeit über Nukleotide in Drüsenzellen), so niedrig im Vergleich zur Eiweißabsorption, daß keine deutliche Nukleinsäurebande auftritt. Die Mengen sind also bei weitem geringer als in der embryonalen Leber. Bei einem derartigen Vergleich ist auch zu beachten, daß die Trockensubstanzmenge im Embryo weit kleiner ist als

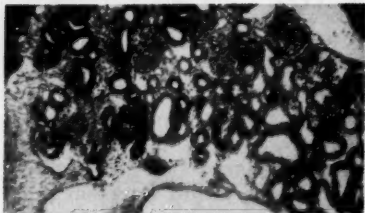


Abb. 3. Übersichtsbild der Urniere eines 6tägigen Hühnerembryos. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 70fach.

im fertigen Küchlein. Nach TANGL (1903) beträgt der Trockensubstanzgehalt am 21. Tage 17—20,5% und am 10. Tage 5,7—7,3%. FRIDERICIA fand vom 6.—10. Tage einen ungefähr konstanten Stickstoffgehalt im Embryo, weshalb TANGLS 10 Tage-Wert auch für einen Embryo von 6 Tagen gelten dürfte. Dieser Unterschied des Wassergehaltes bewirkt, daß im Embryo der Nukleinsäuregehalt noch mehr hervortreten muß als es aus dem direkten Vergleich der Absorptionswerte hervorgeht.

Die Urniere läßt ähnliche Verhältnisse erkennen, ist aber infolge ihrer eigenartigen Entwicklung ein besonders günstiges Objekt. Die Urnierenanlage tritt binnen 2—3 Tagen auf und ist in 7—8 Tagen völlig entwickelt (FRIDERICIA 1912). Sie ist also ein Organ, welches entwickelt, fertigdifferenziert und wieder zurückgebildet wird, um von der bleibenden, definitiven Niere abgelöst zu werden, während sich die anderen Organe im Embryo entwickeln. Es ist demnach zu erwarten, daß dieselbe auf der Höhe ihrer Entwicklung etwa am 7.—8. Tage allein unter sämtlichen Organen des Embryos das Bild eines fertigdifferenzierten Gewebes darbieten werde. Abb. 3 stellt ein Übersichtsbild vom 6. Tage dar. Das Parenchym baut sich aus Schläuchen verschiedenen Charakters auf. Hauptsächlich dorsal liegen schmale Schläuche, deren Zellen auf der Photographie dunkler aussehen, hauptsächlich ventral befinden sich weite Schläuche mit ganz hellen Zellecytoplasmen. Die dazwischen liegenden Schläuche weisen Zwischenformen auf. Bei Untersuchung in mit Hämatoxylin gefärbten Serienschritten zeigten sich in den schmalen Schläuchen

große Mengen von Mitosen; in den schmalsten Schläuchen finden sich in einem  $5\mu$ -Schnitt oft mehrere. In den weiten Schläuchen ließen sich nur sehr spärliche Mitosen beobachten. Alle diese Umstände sprechen stark dafür, daß die verschiedenen Teile der Nierenlage verschiedenen Entwicklungsstadien entsprechen, und zwar in der Weise, daß die schmalen hinteren Schläuche, in welchen die Zellteilungen rasch verlaufen, sich in der Richtung auf das Stadium entwickeln, welches die ventralen weiten Schläuche verkörpern. In älteren Embryonen besteht auch der Hauptteil der Urniere aus Schläuchen von diesem Typ (Abb. 4c). Die

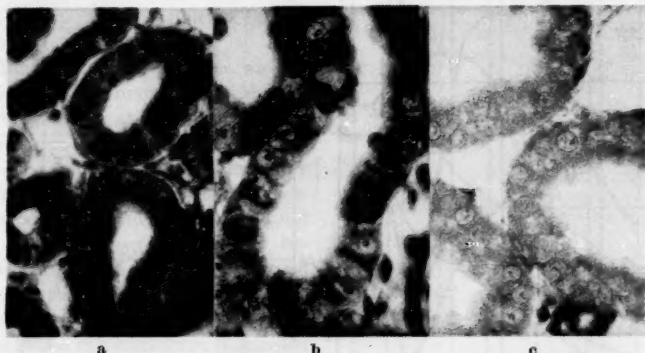


Abb. 4a—c. a und b Teile der Niere in Abb. 3 bei stärkerer Vergrößerung. c Die weitesten Schläuche in der Niere eines 9tägigen Embryos. Die Lichtbilder sind so gleichartig wie möglich aufgenommen und kopiert. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 500fach.

verschiedenen Teile der Urniere in ein und demselben Präparat scheinen also verschiedenen Entwicklungsstadien auf dem Wege zu einem definitiven Organ zu entsprechen. Abb. 4a und b zeigen einige Schläuche aus den verschiedenen Teilen in stärkerer Vergrößerung. Aus der Abbildung wird ersichtlich, daß die Zellen der schmalen Schläuche in ihrem Protoplasma eine Konzentration von absorbierenden Substanzen haben, welche mit der der Leberzellen vergleichbar ist, während die Zellen der weiten Schläuche ziemlich hell sind. Dieses Verhalten ist konstant und tritt in sämtlichen Präparaten und in allen Nierenteilen deutlich hervor. Absorptionsspektren von Punkten in den Cytoplasmen von Zellen in Schläuchen verschiedener Typen sind in Abb. 5 dargestellt. Dort wird deutlich ersichtlich, wie die Bande der Nukleotide bei 2600 Å in den schmälern Schläuchen weit mehr entwickelt ist als in den weiten. In ein und demselben Präparat, wo die Behandlungs- und Messungsverhältnisse so identisch sind wie nur irgend möglich, tritt also klar hervor, wie die Nukleinsäurekonzentration sinkt, wenn die Zellteilungsintensität gegen das Ende der Entwicklung des Organs hin abnimmt.

Als Repräsentant für *Deckepithel* wurde Epithel vom Darm untersucht. Kurve 1 und 3 in Abb. 6 stammen von einem 6tägigen Embryo.

Die Nukleinsäurebande tritt distinkt hervor und dominiert stark über die Eiweißbande. Kurve 2 und 4 sind an Material von dem ausgeschlüpften Kiechlein aufgenommen. Die Kurvenform zeigt, wie die Nukleinsäurebande von

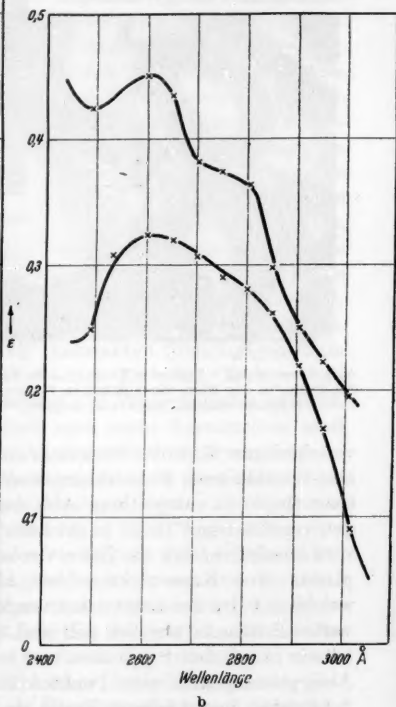
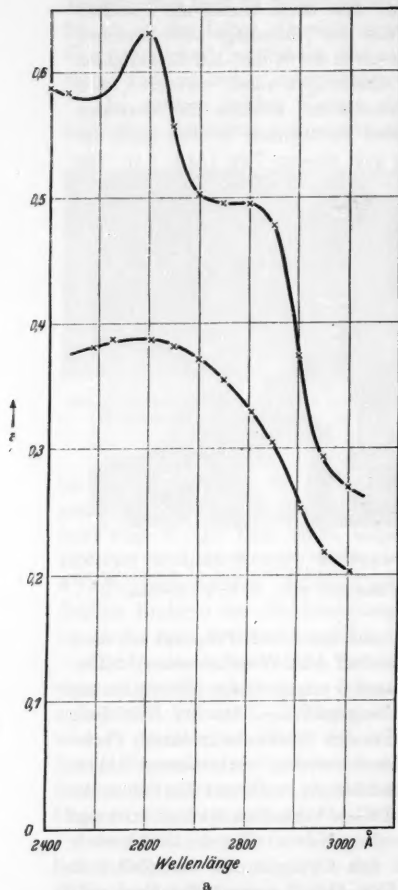


Abb. 5a und b. Absorptionsspektren von Cytoplasmapunkten in nahe beieinander liegenden Zellen aus schmalen Nierenschläuchen, obere Kurven, und weiten Schläuchen, untere Kurven.

der Eiweißabsorption verdeckt wird, sie macht sich nur andeutungsweise bemerkbar. Die Höhen der Absorptionskurven weisen nicht solche Unterschiede auf wie bei der Leber. Die Form dagegen ist ganz verschieden. In diesem Fall zeichnet sich also, wie in anderen

Organen, das embryonale Gewebe durch einen weit höheren Nukleotidgehalt aus als das definitive, und zwar im Verhältnis zu den Eiweißmengen, aber das definitive Gewebe enthält soviel Eiweißstoffe (vgl. oben die Trockensubstanzbestimmungen), daß die Niveaus der Absorptionskurven ungefähr dieselben werden.

Die Ultraviolettphotographien von anderen epithelialen Organen bei 2570 Å zeigen, daß auch bei diesen gleichartige Verhältnisse vorliegen. Der WOLFFSche Gang in einem 3tägigen Embryo gibt ein Beispiel hierfür Abb. 7.

Die *Blutzellenreihe* bietet wie die Niere ausgezeichnete Möglichkeiten zu Vergleichen zwischen Zellen verschiedenen Entwicklungsgrades. In erster Linie hat DANTSCHAKOFF (1908) die Hämatopoese im Hühnerembryo eingehend untersucht und die verschiedenen Zellformen beschrieben, welche auftreten. Während der Erythropoese bilden sich aus primitiven Blutzellen kleinere rundliche Zellen mit distinkten Nukleolen und stark basophilem Cytoplasma, die primitiven Erythroblasten. Diese teilen sich rasch und lassen andere primitive Erythroblasten sowie oft ziemlich große, abgeflachte Zellen entstehen. Letztere teilen sich schnell und entwickeln sich zu Zellen mit großem, etwas abgeflachtem Cytoplasma, den primitiven Erythrocyten. Etwas später beginnen definitive Erythroblasten aufzutreten, welche sich ebenfalls rasch teilen und sich zu den definitiven roten Blutkörperchen entwickeln. Diese Entwicklung verläuft so allmählich, daß alle diese Formen gleichzeitig im Blut zu finden sind.

Es wurden gefärbte Ausstrichpräparate angefertigt, welche mit Ultraviolettpräparaten verglichen wurden<sup>1</sup>. Durch diese Vergleiche sowie an Hand der Beschreibungen und Abbildungen von DANTSCHAKOFF konnte bestimmt werden, wie die verschiedenen Blutzellengruppen im Ultraviolettmikroskop erscheinen.

<sup>1</sup> Diese Versuche wurden unter Mitwirkung von G. JUNGNER durchgeführt.

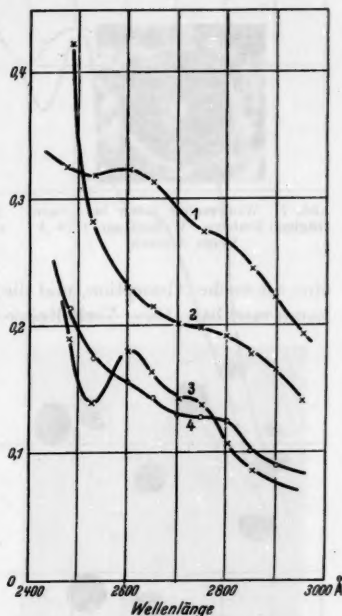


Abb. 6. Absorptionsspektren von Cytoplasmaeigenheiten in Darmzellen eines 6tägigen Embryos (Kurve 1 und 3) und eines eben ausgeschlüpften Küchens (Kurve 2 und 4). Die Verschiedenheit der Kurvenform ist auffallend.

Im Ultraviolettbild tritt sehr deutlich hervor, wie die primitiven Blutzellen ein mit stark ultraviolettabsorbierenden Substanzen geladenes Cytoplasma und die Erythroblasten ein zwar helleres, aber doch stark absorbierendes Plasma haben. Die primitiven Erythrocyten haben

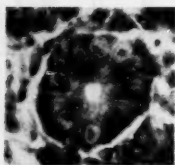


Abb. 7. Wolffscher Gang bei einem 3tägigen Embryo. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 550fach.

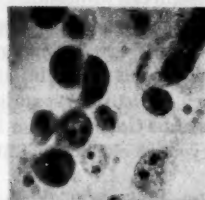


Abb. 8. Primitive Blutzellen aus der Area vasculosa, 4tägiger Embryo. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 550fach.

eine schwache Absorption, und die definitiven Erythrocyten absorbieren kaum merkbar. Diese Verhältnisse werden von Abb. 8—10 demonstriert.

Absorptionsmessungen wurden ausgeführt an Cytoplasmen von primitiven Erythroblasten, welche in Blutgefäßen in der Area vasculosa

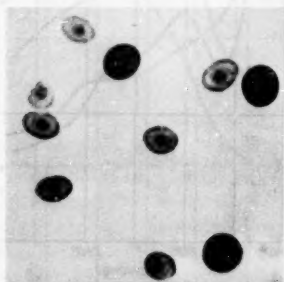
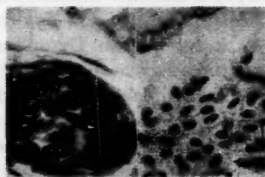


Abb. 9.

Abb. 9. Primitive und definitive Erythrocyten und Erythroblasten. Die Zellen mit der starken Cytoplasmaabsorption sind die primitiven Formen. Direktpräparat. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 550fach.



a b  
Abb. 10.

Abb. 10a und b. Teile von mit Erythrocyten vollgestopften Kapillaren von a Area vasculosa eines 3tägigen Embryos und b Darmkapillaren eines eben ausgeschlüpften Küchens. Die möglichst gleichartig aufgenommenen und kopierten Bilder demonstrieren den großen Unterschied in der Cytoplasmaabsorption bei 2570 Å zwischen primitiveren Formen (primitivste Erythroblasten) und den definitiven Erythrocyten. Freezing-drying-Präparat. Vergr. 550fach.

zusammengedrängt lagen, sowie an Cytoplasmen von definitiven, in Darmkapillaren des ausgeschlüpften Küchleins zusammengepackten Erythrocyten (Abb. 10a und b). Durch diese Packung wurde bis zu einem gewissen Grade die Verschiedenheit der Blutkörperchenform eliminiert, so daß nicht nur die Kurvenformen, sondern auch die Höhen der Absorptionskurven verglichen werden können. Die Messungen entsprechen



also dem Durchschnitt durch das Cytoplasma etlicher Zellen. Die Meßpunkte wurden so gewählt, daß kein Kern das Resultat beeinflusste. Die Verschiedenheit im Kurvenverlauf ist sehr groß. In den fertigdifferenzierten Blutkörperchen, welche nicht weiterwachsen sollen, fehlt jede Spur von Nukleotidabsorption im Cytoplasma, während die sich rasch teilenden primitiveren Formen besonders hohe Konzentrationen haben (Abb. 11).

Von den sich rasch weiterentwickelnden primitiven Blutzellen an bis zu den definitiven Erythrocyten, Zellen, welche eher als die meisten anderen im Organismus als fertig differenziert und ausgewachsen bezeichnet werden können, sinkt also der Nukleotidgehalt des Cytoplasmas mehr und mehr. Interessant ist in diesem Zusammenhang DANTSCHAKOFF's Hinweis, daß sich diese Reihe durch eine kontinuierlich sinkende Tendenz des Cytoplasmas, sich mit basischen Farbstoffen zu färben, auszeichnet, ein Phänomen, welches von dem fallenden Nukleinsäuregehalt erklärt wird.

Die übrigen Organe weisen bei der Untersuchung im Mikroskop bei 2570 Å Bilder auf, welche den oben angeführten gänzlich entsprechen. Die Darmzellen, welche gemessen wurden, repräsentieren wohl jegliches Epithel im Verdauungskanal. Die Zellen des Muskelsystems haben in den ersten Anlagen für die Rumpfmuskulatur ein Aussehen, welches dem

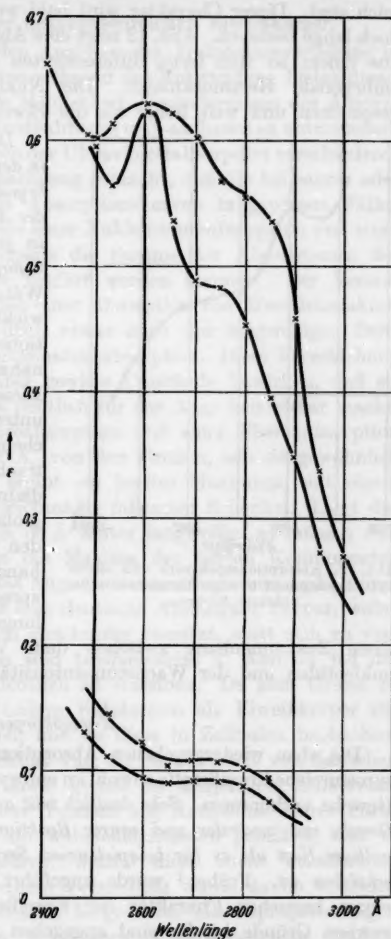


Abb. 11. Abb. 10a und b entsprechende Absorptionsspektren.

der Leberzellen ähnlich ist, indem die Cytoplasmen mit ultraviolett-absorbierenden Substanzen geladen, die Nukleolen groß und nukleinsäure-reich sind. Dieser Charakter wird bald weniger ausgeprägt, bleibt aber doch lange bestehen. Abb. 12 zeigt eine Absorptionskurve von einer Zelle aus einem so weit fertig differenzierten Gewebe wie die fungierende embryonale Herzmuskulatur. Die Nukleinsäurebande ist gut ausgesprochen und weit höher als die Eiweißbande.

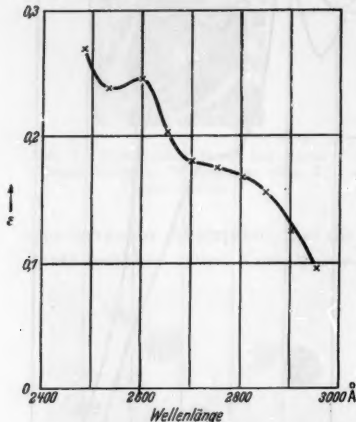


Abb. 12. Absorptionsspektrum von einem Cytoplasmakörper in einer Herzmuskelzelle. 6tägiger Embryo.

Diese Resultate zeigen also, daß in dem sich rasch entwickelnden embryonalen Gewebe Substanzen mit der Absorptionsbande der Nukleotide in großen Mengen, vor allem im Cytoplasma lokalisiert, vorkommen. Während des Verlaufes der Entwicklung sinken die Konzentrationen gleichzeitig mit der Abnahme der Zellteilungsintensität. Diese Beobachtungen bedeuten, unter dem Gesichtswinkel früherer chemischer Untersuchungen betrachtet, daß embryonales Gewebe dadurch gekennzeichnet wird, daß große Nukleotidkonzentrationen in den Cytoplasmen der Zellen vorhanden sind, Mengen, welche entsprechend der Abnahme der Teilungsintensität sinken, was auf

einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cytoplasmakörpern und der Wachstumsintensität hindeutet.

#### Eiweißkörper.

Die oben wiedergegebenen Absorptionskurven zeigen sämtlich, daß tyrosinreiche Eiweißstoffe sowohl im embryonalen als auch im erwachsenen Gewebe vorkommen. *Sehr deutlich tritt auch hervor, wie im embryonalen Gewebe mit neutraler und saurer Reaktion die Eiweißbande etwas langwelliger liegt als es für beispielsweise Serumalbumine und Globuline beschrieben ist.* Früher<sup>1</sup> wurde angeführt, daß diese Verschiebung auf einem basischen Charakter der Eiweißsubstanz beruhen dürfte, und gewisse Gründe hierfür sind angegeben worden. Auf Grund des umfassenden, von SCHENCK veröffentlichten Analysenmaterials ist das Gewebe von Embryonen das ideale Testobjekt für diese Ansicht, weshalb dasselbe im folgenden Abschnitt ausführlicher behandelt wird, bevor

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: *Chromosoma* 1, 566 f. (1940).

Schlußfolgerungen über die Eiweißverteilung in den einzelnen Zellen gezogen werden.

#### Absorptionsspektrum der hexonbasenreichen Eiweißkörper.

Dank SCHENCKs umfassenden Analysen der Aminosäureverteilung in den Eiweißkörpern des Embryos während der Entwicklung bietet dieses Material eine einzig dastehende Möglichkeit, Veränderungen des Absorptionsspektrums während des Eiweißabbaues und -aufbaues zu untersuchen.

Bei früheren Untersuchungen der Ultraviolettabsorption verschiedener Zellstrukturen wurde die Beobachtung gemacht, daß die bei saurer oder neutraler Reaktion erhaltenen Absorptionskurven in gewissen Fällen nicht wie die übrigen als Summe einer Nukleinsäureabsorption und einer Eiweißabsorption, welche ihrerseits die Summe der Absorptionen der enthaltenen Aminosäuren war, erklärt werden konnten. Der Verlauf der Kurven entsprach einer über einer Absorption von Eiweißcharakter, deren Absorptionsmaximum doch etwas nach der langwelligen Seite verschoben war, gelagerten Nukleinsäureabsorption. Diese Verschiebung ist unerheblich, 50—150 Å, aber gewisse Umstände bewirken, daß sie in den Absorptionskurven sich deutlich für das Auge bemerkbar macht. Die Summe einer Nukleinsäureabsorption und einer Eiweißabsorption mit einem Maximum bei 2750 Å, von den Größen, wie sie gewöhnlich im Zellmaterial vorkommen, ergibt ein breites Maximum, mit einem gegen längere Wellenlängen gleichmäßig fallenden Schenkel. Liegt das Eiweißmaximum auch nur um 50 Å weiter langwellig, so müssen sich unter denselben Verhältnissen die Maxima der beiden Komponenten der Summenkurve schon für das Auge zu trennen beginnen, und an dem fallenden Kurvenschenkel tritt eine deutliche Ausbiegung hervor, wobei das Nukleinsäuremaximum sich gleichzeitig zuspitzt, statt sich zu verbreitern<sup>1</sup>. Diese Kurventypen sind beispielsweise in Abb. 5a bei der unteren bzw. oberen Kurve deutlich zu erkennen. Da kein Grund zu der Annahme bestand, daß andere Substanzen als Eiweißkörper die Bande bei 2800—2900 Å geben, und da diese in Zellteilen beobachtet wurde, bei welchen man berechtigt war, die Anwesenheit von basischen Eiweißstoffen zu vermuten, sowie gerade in denjenigen Zellkernabschnitten, welche eine besondere Tendenz zur Aufnahme saurer Farbstoffe aufwiesen, wurde für am wahrscheinlichsten gehalten, daß es basische Eiweißsubstanzen wären, welche diese leicht verschobene Eiweißabsorption bedingten. Diese Vermutung wurde davon bestärkt, daß 6 verschiedene, nach KOSSEL hergestellte Histonpräparierungen dasselbe Phänomen aufwiesen, wenn auch in verschiedenem Grade<sup>2</sup>. Nach KOSSEL und Mitarbeiter sind die Histone als Umbauprodukte und oft als Zwischenprodukte in weitergehenden Umbauprozessen höherer Eiweißstoffe zu bezeichnen. Folglich sind die meisten Substanzen,

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: *Chromosoma* 1, 570 f. (1940). — <sup>2</sup> KOSSEL: l. c. S. 569.

welche in diese Gruppe eingereiht werden, chemisch bei weitem nicht so wohldefiniert wie in den meisten anderen Eiweißgruppen und wahrscheinlich oft wenig einheitlich. Es dürften alle Übergänge zwischen den einfacheren eigentlichen Histonen und den Eiweißkörpern mit beibehaltenem Albumin- oder Globulincharakter, aber mit hohen Gehalten an basischen Aminosäuren, welche während des Eiweißumbaus beispielsweise in dem Hühnerei auftreten, existieren. Die allgemeinere Schlußfolgerung, zu der diese Untersuchungen der KOSSELSchen Schule berechtigen würden, ist, daß *im Zusammenhang sowohl mit Abbau als auch Aufbau von Eiweiß während des normalen Zellstoffwechsels als Zwischenprodukte Eiweißkörper von verschiedenen Typen auftreten, welche durch ihren hohen Gehalt an Hexonbasen gekennzeichnet werden.* In die Histongruppe fällt definitionsgemäß nur der Teil von diesen Substanzen, bei welchem die Aminosäureverteilung eine derartige ist, daß der Charakter der basischen Aminosäuren überwiegen muß. Aus diesen Gründen wurde in früheren Veröffentlichungen die Bezeichnung „Substanzen mit dem Absorptionscharakter der Histone“ für diejenigen Körper angewendet, welche die Bande über 2800 Å bedingen.

Es gibt eine physikalische Unterlage für eine derartige Verschiebung. Die Eiweißbande setzt sich aus den beiden Banden des Tyrosins und Tryptophans zusammen. Die Lage der Tyrosinbande wird vom Dissoziationsgrad der Phenolgruppe beeinflusst (STENSTRÖM und REINHARD 1925). In alkalischer Lösung liegt dieselbe bei 2950 Å, in saurer und neutraler bei 2750 Å. Dieser Tyrosinbandenverschiebung entspricht eine Veränderung in der Absorption derjenigen Eiweißstoffe, in welchen Tyrosin enthalten ist, deren Absorptionsbanden also in alkalischer Lösung nach höheren Wellenlängen hin verschoben liegen. STENSTRÖM und REINHARD verglichen eine Eiweißlösung mit einer Aminosäurelösung mit demselben Tyrosin- und Tryptophangehalt und fanden, daß, während die Übereinstimmung bei alkalischer Reaktion gut war, bei saurer ein kleiner Unterschied auftrat, indem das Maximum der Eiweißsubstanz nicht ganz so weit zurückging wie das der Aminosäuremischung. Dies mußte bedeuten, daß die Bande des Tyrosins nicht ganz so weit zurückwanderte, wenn die Aminosäure in der Peptidkette gebunden war. Die Autoren versuchten auch, einen Eiweißkörper zu hydrolysieren, um durch Vergleich der Absorptionsspektren vor und nach der Spaltung den Einfluß der Bindung direkt beweisen zu können; das mißlang aber, da eine Reihe von Aminosäuren unter der starken Säurebehandlung zerfielen. In einem anderen Zusammenhang wurde indessen dieses Experiment von HATROWITZ (1939) angestellt. Dieser hydrolysierte enzymatisch und aus seinen Kurven geht der Effekt deutlich hervor. Damit ist also bewiesen, daß die Bindung in einer Eiweißkette die Lage des Absorptionsmaximums in saurer Lösung beeinflusst, und zwar in der Richtung einer Verschiebung nach höheren Wellenlängen hin. STEN-

STRÖM und REINHARD zogen aus ihren Versuchen die Schlußfolgerung, daß, da es die Verschiebung der Tyrosinbande war, welche gehemmt wurde, und da diese Verschiebung von der Dissoziation der Phenolgruppe bestimmt wurde, dieser letztere Faktor von der Bindungsweise der Aminosäure beeinflußt wurde. Sie hielten für am wahrscheinlichsten, daß die sterische Konfiguration eine derartige war, daß die freien Aminogruppen in den Diaminosäuren eine Einwirkung auf die Dissoziation der Phenolgruppe im Tyrosin ausübten.

Daraus folgt aber, daß Eiweißstoffe, welche besonderes reich an Diaminosäuren sind, bei gleichem Tyrosingehalt in saurer Lösung eine stärkere Verschiebung des Maximums nach höheren Wellenlängen hin aufweisen müssen als andere. *Dies entspricht völlig den oben angeführten Beobachtungen, bei welchen eine Verschiebung des Tyrosinmaximums gefunden wurde, die in den basischen Histonen ausgesprochener war als in den Serumweißkörpern*, was natürlich die Ansicht von STENSTRÖM und REINHARD über den Mechanismus der Verschiebung stark stützt.

Bei der Lückenhaftigkeit unserer derzeitigen Kenntnisse über die sterischen Verhältnisse des Eiweißmolekül bestehen geringe Aussichten, durch Peptidsyntheseversuche den Mechanismus der Maximumverschiebung direkt demonstrieren zu können. Der Hühnerembryo er bietet indessen eine besonders gute Möglichkeit dafür, die Beziehung zwischen Bandenverschiebung und Hexonbasengehalt zu untersuchen. Die oben angeführten sehr umfassenden Analysen der Aminosäureverteilung während der Entwicklung des Hühnerembryos, welche SCHENCK ausgeführt hatte, zeigen, daß vor dem 10. Tage sämtliche Eiweißkörper des Embryos äußerst hexonbasenreich sind; es wurden Werte bis zu 40% des Gesamtstickstoffs gefunden (siehe oben S. 134). Danach geht der Hexonbasengehalt so zurück, daß die Eiweißstoffe des eben ausgeschlüpften Kükens ungefähr denselben Gehalt an diesen Substanzen haben wie die des erwachsenen Tieres. Der Tyrosingehalt liegt in der ganzen Zeit bei ungefähr denselben Werten, im Embryo ist derselbe jedoch etwas höher. Der Tryptophangehalt ist beim Embryo etwas geringer. Die Gewebe des ganz jungen Embryos enthalten mehrere verschiedene Eiweißstoffe, welche aber alle von dem hohen Hexonbasengehalt gekennzeichnet werden.

Die Absorptionskurven der embryonalen Gewebe (Abb. 2, 5, 6, 11 und 12) zeigen den charakteristischen „Histonabsorptionstyp“. Sie ergeben alle, daß das Maximum des Tyrosins in den enthaltenen Eiweißstoffen trotz der neutralen oder sauren Reaktion, in welcher die Messung stattfand, bei höheren Wellenlängen liegt als es bei der freien Aminosäure der Fall ist. Der Effekt ist bei den einzelnen Geweben etwas verschieden, ist aber überall sehr stark. So erhebliche Verschiebungen waren früher nur bei einzelnen Nukleolen aus erwachsenen Geweben beobachtet worden. Das Maximum des Tyrosins liegt, mit der früher

angegebenen Methode<sup>1</sup> bestimmt, bisweilen weit verschoben, bei über 2900 Å. Mit dem Fortschreiten der Entwicklung wird diese Verschiebung geringer, und in den Cytoplasmen des ausgewachsenen Kükens ist sie nur unerheblich — die Absorptionskurven haben einen nahezu gleichmäßig fallenden Schenkel mit kaum angedeuteter Doppelzackigkeit.

*Der Absorptionsbefund bei Eiweißstoffen des Embryos entspricht also in allen Punkten den SCHENCKschen Analysendaten sowie der Annahme, daß es der Gehalt an basischen Aminosäuren ist, welcher die Verschiebung der Tyrosinbande bedingt; man dürfte folglich dazu berechtigt sein, zu sagen, daß eine Verschiebung der Tyrosinbande, die Entstehung einer „Absorption vom Histontyp“, durch den Reichtum des Eiweißkörpers an Hexonbasen veranlaßt wird.* Inwieweit der Grad der Verschiebung eine einfache Funktion der Hexonbasenmenge ist, läßt sich nicht voraussagen, da ja sterische Faktoren beim Zustandekommen des Effektes die Hauptrolle spielen dürften. Im frühesten embryonalen Material, welche sich durch besonders hohe Hexonbasenwerte auszeichnet, ist jedoch die Verschiebung besonders groß, und sie geht während der Entwicklung zurück, gleichzeitig damit, daß nach SCHENCK der durchschnittliche Hexonbasengehalt sinkt.

#### Erörterung der Eiweiß- und Nukleinsäureverteilung im Embryo.

Die obigen Absorptionskurven ergeben alle mit einer Ausnahme dasselbe Resultat, d. h. sie zeigen den charakteristischen doppelzackigen Verlauf mit schmaler 2600 Å-Bande und hoher Absorption bei etwa 2400 Å<sup>2</sup>, den „Histonabsorptionstyp“ beim Embryo und die einfache, breite, gleichmäßig fallende Bande vom „Albumin-Globulinabsorptionstyp“ beim Küken, woraus ersichtlich wird, wie die Eiweißstoffe während der Entwicklung umgebaut werden. Die Ausnahme bildet das Urnieren-gewebe. Wie oben auf S. 140 angegeben wurde, war bei denjenigen Nierenschläuchen, in welchen die Zellteilung rasch vonstatten ging, die Nukleinsäurekonzentration hoch. Bei diesen Schläuchen tritt auch die für hexonbasenreiche Eiweißkörper charakteristische Absorption hervor. In den nur langsam wachsenden Schläuchen ist die Nukleinsäurekonzentration niedriger, und es ist besonders auffallend, daß die Absorptionskurven den typischen „Albumin-Globulintypus“ zeigen (Abb. 4 und 5), d. h. denselben Absorptionscharakter wie bei den Geweben des ausgeschlüpften Kükens. Die Urniere nimmt indessen unter den Geweben des Embryos eine Sonderstellung ein, indem sie in 7 bis 8 Tagen fertig differenziert wird, während die anderen Gewebe noch ihren embryonalen Charakter behalten haben, worauf oben bei der Behandlung des Nukleinsäuregehaltes derselben hingewiesen wurde (S. 139). Die Absorptionsspektren zeigen also in der Urniere ganz dieselbe

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: Chromosoma 1, 572 (1940). — <sup>2</sup> CASPERSSON, T.: Chromosoma 1, 574 (1940).



Entwicklung von „embryonalen“ (hexonbasenreichen) Eiweißkörpern zu „erwachsenen“, welche der Embryo als Ganzes durchmacht, aber auf die spezielle Entwicklungsperiode derselben konzentriert. *Dieses Verhalten spricht fernerhin dafür, daß die Entwicklung über hexonbasenreiche Eiweißstoffe ein allgemeiner Zug während der Zellentwicklung und -differenzierung ist.*

Zwei Momente sind folglich für das in raschem Wachsen befindliche Gewebe charakteristisch, nämlich die hohen Konzentrationen von Nukleotiden im Cytoplasma und der Umstand, daß die Eiweißstoffe sehr reich an Hexonbasen sind sowie die Tatsache, daß beide Merkmale beim Abschluß der embryonalen Periode verlorengehen. Im Verein mit einer Serie von Beobachtungen an anderem Material (CASPERSSON 1940, 1941) ergibt sich hieraus, daß, wenn in einer Zelle eine rasche Eiweißbildung im Gang ist, stets Nukleotide zugegen sind, was nach früheren Ergebnissen<sup>1</sup> zeigen dürfte, daß sich die Nukleotide bei der Eiweißbildung beteiligen. Substanzen mit dem Gepräge der basischen Eiweißkörper sind chemisch während des Eiweißumbaus bei der Spermiogenese (KOSSEL u. a.) sowie von SCHENCK während der Embryonalentwicklung nachgewiesen worden. Die Absorptionsdaten sprechen stark dafür, daß dieses Verhalten allgemeine Bedeutung besitzt. Wie bereits betont wurde, findet man denjenigen Absorptionstyp, welcher die hexonbasenreichen Eiweißkörper kennzeichnet, bei dem mannigfaltigsten Material gelegentlich der Eiweißproduktion. Bei der Zellteilung (vgl. das in Naturwiss. 1941 gegebene Schema) tauchen diese im Heterochromatin sowie im Nukleolenmechanismus auf, wo die Absorptionsbandenverschiebungen dieselbe Größenordnung erreichen können wie beim embryonalen Zelleytoplasma. In den euchromatischen Teilen wurden dieselben nicht beobachtet, dabei ist jedoch zu bemerken, daß sich das eigentliche Chromatin gerade aus solchen Eiweißkörpern und aus Nukleinsäuren aufzubauen scheint. In sämtlichen Fällen, welche bisher untersucht worden sind, wo Eiweißstoffe aufgebaut werden, bei der Zellteilung, bei der Cytoplasmaeiweißproduktion, in eiweißzeugenden Drüsen, gelangen sie zur Beobachtung. *Beim Aufbau von Eiweißkörpern in der lebenden Zelle sind offensichtlich immer beträchtliche Mengen sowohl von Nukleotiden als auch von hexonbasenreichen Eiweißsubstanzen vorhanden.* Aus Mangel an Daten läßt sich die Funktion der letzteren zur Zeit nicht erörtern. Verschiedene Momente sprechen dafür, daß denselben eine wesentliche Rolle bei der eigentlichen Eiweißproduktion zufallen könnte (z. B. der hohe Gehalt der Chromosomen an Nukleohiston) sowie dafür, daß sie an den Nukleinsäureumsatz gebunden sein können (beispielsweise der spezielle Reichtum derselben an Histidin, derjenigen Aminosäure, welche nachweislich ein Purinvorstadium darstellen kann, und das Sinken der Histidinmenge im Laufe der Entwicklung), und daß sie

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: l. c. und Chromosoma 2 (1941).



Zwischenstadien im Eiweißumbau bilden können (gewisse Daten vom Embryo sowie die chemischen Spermienuntersuchungen). Nichts widerspricht natürlich einer Annahme, daß alle diese Funktionen gleichzeitig von zu dieser ausgedehnten Substanzgruppe gehörenden Stoffen ausgeübt werden könnten, ebenso wenig wie die früher angeführte Stützung für die Rolle der Nukleotide bei der Eiweißproduktion ausschließt, daß letztere daneben noch andere Aufgaben haben können.

Aus Pflanzenmaterial sind eigentliche Histone nicht dargestellt worden. Dagegen wurde besonders aus Samen eine erhebliche Anzahl von Substanzen mit hohen Hexonbasengehalten gewonnen. Wie das Pflanzeneiweiß überhaupt zeichnen sich diese durch einen hohen Gehalt an der Dikarbonsäure Glutaminsäure aus, deren saurer Charakter dem basischen der Diaminosäuren entgegenwirkt, so daß der isoelektrische Punkt nicht erheblich nach der alkalischen Seite verschoben wird. Wird dieser Umstand beachtet, so scheinen die Verhältnisse im Pflanzenreich denjenigen im Tierreich zu entsprechen.

#### Einige cytologische Beobachtungen.

Zellen, in welchen eine besonders rasche Bildung von Cytoplasma-eiweißstoffen im Gange ist, weisen oft ein charakteristisches Aussehen auf (CASPERSSON 1941). Der Kern ist groß und bläschenförmig, mit großen, ribosenukleotidhaltigen Nukleolen, das Cytoplasma enthält hohe Konzentrationen von Ribosenukleotiden, namentlich unmittelbar um die Kernmembran. Dies wurde als Hyperfunktion des Heterochromatin-Nukleolensystems gedeutet. Der Prototyp dieser Zellen ist die wachsende Eizelle.

Im Ultraviolett wird das Bild dieser Zellen wie in Abb. 1, 8, 13 von stark absorbierenden Nukleolen in einem oft bläschenförmigen Kern ausgezeichnet. Das Cytoplasma hat eine starke Absorption. In einem Hämatoxylinpräparat tritt sowohl die Nukleolensubstanz als auch das Cytoplasma, besonders nahe am Kern, intensiv gefärbt hervor. Beim FEULGEN-Präparat wird man besonders dadurch überrascht, daß in dem großen Nukleolus nur kleine Körnchen die Reaktion für Ribodesosenukleotide geben. Oft liegen viele derartige Körnchen peripher und können den Umriss des ganzen Nukleolus wiedergeben.

Von Embryonen des 3.—6. Tages sowie von Organen eines fertig entwickelten Kichleins wurden Serienschritte hergestellt. An 3 aufeinanderfolgenden Schnitten wurde eine Hämatoxylinfärbung, eine Nuklealreaktion nach FEULGEN sowie eine Untersuchung im Ultraviolett ausgeführt. Dadurch ließen sich die Hauptzüge der Nukleinsäureverteilung, der Verteilung von Ribose- und Ribodesosenukleotiden und der Zellteilungsintensität in den verschiedenen Organen vergleichen.

Die frühen embryonalen Zellen zeigen durchaus den Typ, welcher oben an der Eizelle erläutert wurde. Im Laufe der Entwicklung geht dieser Typ nach und nach verloren. Die frühesten und am intensivsten

wachsenden Zellen, welche auf den Abbildungen dargestellt wurden, sind die primitiven Blutzellen (Abb. 8) sowie die Leberzellen vom 3 Tage-Embryo (Abb. 13). Diese zeigen den eben genannten Zelltyp in stark ausgeprägter Form. Beim 3 Tage-Embryo weisen praktisch alle Gewebe denselben Typ auf, unabhängig vom Gewebstyp und dem Keimblatt, aus welchem sie stammen.

Die Urniere bietet eine ausgezeichnete Gelegenheit, die verschiedenen Stadien während des laufenden Entwicklungsprozesses zu untersuchen, indem beim Embryo vom 6. Tage die verschiedenen Stadien nebeneinander auftreten, wie oben (S. 138 und 139) gezeigt worden ist.

In der Urniere kommen alle Übergangsformen zwischen embryonalem und erwachsenem Zelltyp in den verschiedenen Schläuchen vor. Wichtig ist, daß man in den Präparatserien, welche in der oben angegebenen Weise behandelt worden waren, die Entwicklung des Nukleolus verfolgen kann. In den primitivsten Zellen (unten als „I. Stadium“ bezeichnet) findet man ein oder einige unregelmäßige, an nuklealpositiver Substanz ziemlich reiche Gebilde. Der ganze Kern ist im übrigen auch recht reich an dieser. Das Cytoplasma ist im Vergleich zum Zellkern klein. In denjenigen Schläuchen, welche beim 6 Tage-Embryo in der Mitte der Niere liegen und hinsichtlich ihrer Differenzierung eine Zwischenstellung einnehmen („II. Stadium“), ist die Kerngröße ungefähr dieselbe (visuell beurteilt). Der Zelleib ist indessen erheblich größer. Ein runder, auffallend nukleinsäurereicher Nukleolus ist vorhanden. In den am weitesten differenzierten Schläuchen („III. Stadium“) ist der Zelleib noch etwas größer und die Nukleolen treten nicht so deutlich und so wohlgeformt hervor.

Die Zellen des oben als erstes bezeichneten Stadiums befinden sich in lebhafter Mitosetätigkeit. Im II. Stadium nimmt das Volumen des Zelleibs im Vergleich zum Kernvolumen, welches ungefähr konstant zu sein scheint oder möglicherweise etwas größer wird, erheblich zu. Während dieser Zeit scheint eine Bildung von Cytoplasmaweiß in beträchtlichem Ausmaß stattzufinden. Daß der Nukleolenapparat während dieses Stadiums am besten entwickelt ist, stützt frühere Annahmen über einen diesbezüglichen Zusammenhang.

Die Schwäche der „Nukleolus“-Definition tritt in diesem Falle stark hervor. Im Stadium I findet man ein oder einige große, unregelmäßig geformte Elemente und im Stadium II noch größere, recht rundliche Körper im Zellkern. Beide sind basophil. Die Ultraviolettuntersuchung sowie die Nuklealreaktion zeigen, daß die Körper im Stadium I Pentose-



Abb. 13. Leberzellenbälkchen von einem 3tägigen Embryo. Die Platte ist schwach kopiert, um das charakteristische Aussehen der Kernkörper sowie die hohe Absorption in diesem frühen Entwicklungsstadium hervortreten zu lassen. Wellenlänge 2570 Å. Vergr. 550fach.

nukleinsäuren und eine erhebliche Menge desoxypentosenukleotidhaltiger Körnchen enthalten. Im Stadium II dominieren die Pentosenukleotide, aber FEULGEN-positive Körnchen treten deutlich hervor. Sie enthalten also Material, welches aus dem eigentlichen Chromatin stammt. Eine Möglichkeit, zu entscheiden, ob die Körper als Chromozentrumbilde oder Nukleolen zu betrachten wären, existiert also infolge der Schwäche der Nukleolusdefinition nicht. (In anderem Zellmaterial kommen ihrem Bau nach gleichartige Körper vor, aber mit niedrigem Pentosenukleotidgehalt und acidophilem Farbcharakter). Daß die Körper des Stadium I in die rundlichen Gebilde des zweiten Stadiums übergehen, erscheint an Hand der Präparate nicht zu bezweifeln, da alle Zwischenformen vorhanden sind. Sie enthalten beide Arten von Nukleotiden, mit dem Unterschied, daß im Stadium II die Pentosenukleotide mehr als im Stadium I überwiegen. Die einfachste Erklärung für die Beziehung zwischen diesen Gebilden ist folglich die, daß das Stadium I unter Bildung von Pentosenukleotiden in das Stadium II übergeht. Gleichzeitig wird der Zelleib erheblich größer.

Untersuchungen an Speicheldrüsenkernen von *Drosophila* (CASPERSSON 1940) ergaben, daß Chromozentrum und Nukleolus dadurch gekennzeichnet werden, daß beide Substanzen mit dem Absorptionstyp des hexonbasenreichen Eiweißes enthalten. Dies sowie gewisse andere Verhältnisse machen es wahrscheinlich, daß der Hauptteil des Nukleolus aus dem Heterochromatin gebildet wird. Der Nukleolus enthält, dem Absorptionstyp nach zu urteilen, hexonbasenreiches Eiweiß und Pentosenukleotide. Je nach dem Verhältnis zwischen diesen basischen bzw. sauren Substanzen wird die Affinität zu Farbstoffen in den einzelnen Fällen verschieden. Die Entwicklung des Kernes der embryonalen Zelle scheint mit demselben Schema völlig übereinzustimmen. Im Stadium I hat die Chromozentrumbildung begonnen. In diesem werden Eiweiß und Pentosenukleotide produziert, so daß das Chromozentrum mehr und mehr anschwillt. Gleichzeitig wird an der Kernmembran Cytoplasmaciweiß gebildet (vgl. CASPERSSON 1941). Im Stadium II ist die Bildung von Pentosenukleotiden soweit gegangen, daß diejenigen Teile, welche noch Desoxypentosenukleotide enthalten, d. h. das eigentliche Chromozentrum, zu einer unregelmäßigen Randzone rings um den Bestandteil verdrängt worden sind, welcher jetzt mit Recht als Nukleolus bezeichnet werden könnte.

Das früher gegebene Schema für die Entstehung des Nukleolus aus dem Heterochromatin bzw. Chromozentrum stimmt folglich mit den cytologischen und chemischen Beobachtungen in diesem Fall überein. In Zellen höherer Organismen hat der Nukleolus oft dieselbe Zusammensetzung wie in Zellen aus der Urniere, nur der Nukleinsäuregehalt, und damit der Färbungscharakter, wechselt. Weitere Untersuchungen werden zu zeigen haben, ob diese Betrachtungsweise allgemein anwendbar ist, was jetzt wahrscheinlich ist.

### Schlußübersicht.

Mittels Ultraviolett-spektrographie sowie -photographie wurden die Gewebe bei Hühnerembryonen in verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht.

Hierbei ergab sich, daß das Cytoplasma der Zellen in den frühesten Stadien, wo die Wachstumsintensität am größten ist, sehr hohe Konzentrationen von Pentosenukleotiden enthält, in Übereinstimmung mit früheren Angaben in bezug auf Zellen, in welchen eine rasche Eiweißproduktion abläuft.

In früheren Untersuchungen wurde wahrscheinlich gemacht, daß das Ultraviolettabsorptionsspektrum bei Eiweißkörpern vom Histontyp, d. h. diaminosäurereichen Eiweißstoffen, eine Abweichung von dem der sauren Eiweißsubstanzen aufweist, welche zur Identifizierung der ersteren verwendet werden könnte. SCHENCK hat in umfassenden Untersuchungen die Aminosäureverteilung in Eiweißkörpern des Hühnerembryos bestimmt und gefunden, daß dieselben in frühen Embryonalstadien äußerst reich an Diaminosäuren sind (bis 40% des Gesamtstickstoffs!). Der Hexonbasengehalt (d. h. Histidin, Arginin und Lysin) nimmt im Laufe der Entwicklung ab, und das „embryonale“ Eiweiß geht in das des fertigen Organismus über. Die Ultraviolettuntersuchung zeigte, in sämtlichen Geweben sehr stark ausgeprägt, eine „Absorption vom Histontyp“, welche während des Verlaufes der Entwicklung in die Absorption vom Typ der sauren Eiweißkörper überging. Sie ergibt also eine vollständige Parallele zu SCHENCK's chemischen Daten, was eine starke direkte Stütze für die früher gemachte Annahme bildet, daß dieser Absorptionstyp von hexonbasenreichen Eiweißstoffen veranlaßt wird.

Die Bedeutung des Umstandes, daß im Verein mit Nukleotiden immer Eiweißsubstanzen vom Charakter des hexonbasenreichen Eiweißes auftreten, wenn Eiweißkörper in der Zelle aufgebaut werden, wird erörtert.

Mit den großen Veränderungen in der Zusammensetzung des Zellleibes gehen Veränderungen des cytologischen Charakters der Zelle Hand in Hand. Dadurch, daß die Urniere eine abgekürzte Entwicklung, embryologisch, cytologisch und chemisch beurteilt, von derselben Art wie die übrigen Gewebe durchläuft, konnten in ein und demselben Präparat die verschiedenen Phasen in der cytologischen Entwicklung verglichen werden. Dabei wurde gezeigt, daß der frühe embryonale Zelltyp demjenigen ähnelt, welcher die in starker Eiweißproduktion befindliche Zelle kennzeichnet: großer, pentosenukleotidhaltiger Nukleolus, großer Kern sowie hohe Konzentrationen von Pentosenukleotiden im Cytoplasma. Wenn sich dieser Zelltyp entwickelt, so erfolgt auch dies gleichzeitig damit, daß die Cytoplasmamenge zunimmt. Der Nukleolus läßt sich von einer unregelmäßigen Zellorganelle in den jüngsten Zellen ab, welche infolge ihres Aussehens sowie ihres Gehaltes an FEULGEN-positiver Substanz als ein Chromozentrum betrachtet wird, verfolgen. Der

Nukleolus besteht folglich aus einem Chromatinteil, der dem Chromozentrum oder einem Teil desselben entspricht, sowie aus eigentlichem Nukleolarmaterial. Diese Beobachtungen stimmen gut mit der hauptsächlich aus *Drosophilamaterial* abgeleiteten Annahme überein, daß sich *der Hauptteil des Nukleolus aus dem Heterochromatin (Chromozentrum, wo sich ein solches ausbildet) entwickelt*. Der Umstand, daß die eine dieser Organellen ein Derivat der anderen zu sein scheint, erklärt einen Teil der Schwierigkeiten, welchen man bei Versuchen, das eine oder das andere dieser Elemente cytologisch zu definieren, oft begegnet.

Momente, welche die in rascher Teilung und starkem Wachstum befindliche embryonale Zelle kennzeichnen, sind also, daß das Cytoplasma zum großen Teil aus Pentosenukleotiden sowie hexonbasenreichen Eiweißstoffen besteht; der Kern ist groß, Chromozentren sind gut ausgebildet. Besonders während des Cytoplasmawachstums, welches nach der lebhaftesten Teilungsperiode zu erfolgen scheint, ist der Nukleolarapparat gut entwickelt und pentosenukleotidreich. Wenn die Wachstumsintensität zu sinken beginnt, werden die Eiweißkörper zu solchen von saurerem Typ umgewandelt, die Nukleotide verschwinden, der Nukleolarapparat bildet sich zurück. Sowohl chemisch als auch cytologisch dürfte man also von einem „embryonalen Zelltyp“ zum Unterschied von einem erwachsenen sprechen können, wobei die charakteristischen Merkmale des ersteren namentlich von der hohen Intensität in der Tätigkeit des Eiweißproduktionssystems bedingt werden.

#### Literaturverzeichnis.

- Ackroyd, H. and F. G. Hopkins: *Biochem. J.* **10**, 551 (1916). — Bywaters, H.: *Biochem. Z.* **55**, 245 (1913). — Calvery, H.: *J. of biol. Chem.* **77**, 489 (1928). — Caspersson, T.: *J. roy. microsc. Soc.* **60**, 8 (1940). — *Chromosoma* **1**, 147, 562, 605 (1939/40); **2** (1941). — *Naturwiss.* **29**, 33 (1941). — Caspersson, T. and J. Schultz: *Nature (Lond.)* **142**, 294 (1938); **143**, 602 (1939). — *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* **26**, 507 (1940). — Dantschakoff, V.: *Anat. H.* **37**, 471 (1908). — Fridericia, L.: *Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.)* **26**, 1 (1912). — Györgyi, P. u. S. Thannhauser: *Z. physiol. Chem.* **180**, 296 (1928). — Haurowitz, F. and T. Astrup: *Nature (Lond.)* **143**, 118 (1939). — Kossel, A.: *Z. physiol. Chem.* **10**, 248 (1886). — Kossel, A. u. E. G. Schenck: *Z. physiol. Chem.* **173**, 278 (1928). — Masing, E.: *Z. physiol. Chem.* **75**, 135 (1911). — Melka, J.: *Pflügers Arch.* **232**, 61 (1933). — Mendel, L. and Ch. Leavenworth: *Amer. J. Physiol.* **21**, 77 (1908). — Morgan, T. H., J. Schultz and V. Curry: *Year Book, Carnegie Inst.* **39**, 251 (1940). — Rose, W. and K. Cook: *J. of biol. Chem.* **64**, 325 (1925); **68**, 217 (1926). — Sagara, J.: *Z. physiol. Chem.* **178**, 298 (1928). — Schenck, E. G.: *Z. physiol. Chem.* **211**, 111 (1932). — Schultz, J., T. Caspersson and L. Aquilonius: *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* **26**, 515 (1940). — Stenström, W. and M. Reinhard: *J. physiol. Chem.* **29**, 1477 (1925). — *J. of biol. Chem.* **66**, 819 (1925). — Stewart, C.: *Biochem. J.* **19**, 1101 (1925). — Tangi, F.: *Pflügers Arch.* **43**, 327 (1903). — Terroine, E. et G. Mourot: *Bull. Soc. Chim. biol. Paris* **13**, 94 (1931). — Tichomiroff, A.: *Z. physiol. Chem.* **9**, 518 (1885). — Voss, H.: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* **34**, 282 (1933).

(Aus dem Morphologisch-Biologischen Institut der Universität in Zagreb.)

## DIE CHROMOSOMENZAHLEN IN DER SPERMATOGENESE DER TAGFALTER.

Von

ZDRAVKO LORKOVIĆ.

Mit 13 Textabbildungen (46 Einzelbildern).

(Eingegangen am 31. März 1941.)

### Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung . . . . .	155
II. Material und Methodik . . . . .	156
III. Die Chromosomenzahlen. . . . .	159
Allgemeine Übersicht über die Chromosomenzahlen der Tagfalter . . . . .	163
Niedrigste und höchste Chromosomenzahlen . . . . .	165
Vervielfachte Zahlen . . . . .	165
Größe und Form der Chromosomen . . . . .	166
IV. Die Regel der Zahlenkonstanz und deren Abweichungen . . . . .	167
V. Niedrige Chromosomenzahlen und deren Entstehung . . . . .	170
VI. Vervielfachte Chromosomenzahlen und deren Entstehung. . . . .	175
Das Vorkommen und Aussehen vervielfachter Sätze . . . . .	175
Entstehungsweise vervielfachter Sätze . . . . .	178
a) Die Neubildung der Spindelfaseransatzstelle . . . . .	178
b) Die Beziehung zwischen der Zahl und Größe der Chromosomen . . . . .	179
c) Das Verhalten der Chromosomen verschieden zahliger Sätze in der Kreuzung . . . . .	180
d) Isoliertheit vervielfachter Sätze in der Chromosomenzahlenreihe . . . . .	180
e) Isometrie der Chromosomen in den vervielfachten Sätzen . . . . .	181
VII. Die Änderung der Chromosomenzahlen und die Außenfaktoren . . . . .	182
VIII. Der systematische Wert des Karyotypus bei den Lepidopteren . . . . .	183
1. Abweichende Grundzahlen . . . . .	183
2. Chromosomenzahlen nahe verwandter Arten . . . . .	188
Zusammenfassung . . . . .	189
Schriftenverzeichnis . . . . .	190

### I. Einleitung.

Bis vor etwa 10 Jahren gab es keine zusammenfassende Bearbeitung und Darstellung der Chromosomen und Chromosomenzahlen der Schmetterlinge, wenn auch verstreut bereits vereinzelte Angaben mehrerer Forscher (KERNEWITZ, DONCASTER, FEDERLEY, HARRISON, SEILER, CRETSCHMAR u. a.) vorlagen. Diesem Mangel hat BELIAJEFF (1930) abgeholfen, der von den meisten Lepidopterenfamilien je einige Arten zur Untersuchung heranzog und auf Grund seiner Ergebnisse einige allgemeine Grundsätze über die Schmetterlingschromosomen und deren Zahlen aufstellen konnte. Das Wichtigste seiner Resultate ist die Feststellung, daß bei allen Lepidopterenfamilien dieselbe Grundzahl (30 oder 31) vorhanden ist und daß somit „die karyotypischen Veränderungen in der Evolution der Ordnung nur eine ziemlich sekundäre Rolle haben spielen können“.



Chromosomenuntersuchungen verschiedener Tagfalterarten, die ich im Zusammenhang mit einigen speziellen Fragen durchführte, ergaben Resultate, die sich nicht ohne weiteres in die oben erwähnten allgemeinen Feststellungen einfügen ließen, was mich zu einer eingehenderen Untersuchung der Tagfalterchromosomen veranlaßte. Dabei fand ich die Hauptergebnisse BELIAJEFFs zum großen Teil bestätigt, aber ich stieß auch auf Chromosomenverhältnisse, die bei Schmetterlingen bisher nicht bekannt waren und nicht nur von speziellem Interesse sind, sondern auch allgemeine Ausblicke auf den Mechanismus der Änderung der Chromosomenzahlen erlauben.

Da bisher von den meisten Schmetterlingsfamilien nur einzelne Arten untersucht worden sind, hielt ich es für zweckmäßig, von einer enger umgrenzten Gruppe mehrere Arten zu untersuchen. Meine Wahl fiel auf die Tagfalter (*Rhopalocera*), mit deren Gruppe ich mich schon seit längerer Zeit befasse; bei Bastardierungsversuchen mit Pieriden habe ich über die Chromosomen dieser Familie bereits einige Erfahrungen gesammelt. Die Tagfalter sind auch deswegen für solche Untersuchungen sehr geeignet, weil ihre Formen (Arten, Rassen usw.) heute schon so genau bekannt sind, daß zuverlässige Angaben über verwandtschaftliche und systematische Beziehungen vorliegen, was ja für die richtige Beurteilung der Chromosomenverhältnisse von größter Wichtigkeit ist. Die möglichst lückenlose Untersuchung einer einheitlichen und zugleich artenreichen Gattung, z. B. *Polyommatus* (*Lycaena*), die in Europa etwa 30 Arten zählt, während im paläarktischen Gebiet über 100 Arten vorkommen, versprach interessante Ergebnisse bezüglich der Zahlenkonstanz der Chromosomen bzw. ihrer Änderung. Die bisherigen Untersuchungen haben diese Erwartung nicht nur erfüllt, sondern noch übertroffen. Aber auch die artenarme Gattung *Leptidea* lieferte ebenso bemerkenswerte Befunde, die sich allerdings schwer mit den bisherigen Ansichten über die Chromosomenzahlen der Schmetterlinge in Einklang bringen lassen.

Die Abhandlung FEDERLEYs (1938), die sich in ähnlicher Weise mit dem gleichen Thema beschäftigt, kam erst in meine Hände, nachdem das Manuskript meiner Arbeit abgeschlossen und an die Schriftleitung abgegeben war. Ich konnte aber auf die wesentlichsten Untersuchungsergebnisse FEDERLEYs nachträglich noch Bezug nehmen.

Die Untersuchungen wurden zum guten Teil während eines längeren, vom französischen Unterrichtsministerium ermöglichten Aufenthalt in Frankreich durchgeführt. Herrn Prof. Dr. R. JEANELL vom Entomologischen Laboratorium des Nationalmuseums in Paris wie auch seiner Assistenten F. LECERF und Ch. BOURSIN gebührt mein Dank für die mir jederzeit bereitwillig gebotene Unterstützung. Nicht zuletzt möchte ich meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Dr. B. ZAENIK, für manche Anregung und seine stets fördernde Kritik meine Dankbarkeit zum Ausdruck bringen.

## II. Material und Methodik.

Zur Untersuchung wurden nur die europäischen Tagfalter herangezogen, und zwar hauptsächlich die Pieriden, Papilioniden und die



Unterfamilie *Polyommata* (*Lycaenini*) von den *Lycaeniden*. Von den übrigen Familien oder Gattungen, deren Chromosomenzahlen noch nicht bekannt waren, wurden nur einzelne Arten herausgegriffen. Von den europäischen Pieriden sind fast alle leichter zugänglichen Arten untersucht worden, 15 an der Zahl; von den *Lycaeniden* alle 5 europäischen *Cupido* (*Everes*), ferner 14 Arten der Gattung *Polyommatus* (*Lycaena*), 1 *Catochrysopinae*, 1 *Lycaenopsinae* und 4 *Glaucopsychninae*. Außer diesen Gruppen war es notwendig, auch die *Satyrinen* und *Hesperiden* etwas eingehender zu untersuchen, da sich bei ihnen interessante Verhältnisse herausstellten, aber vor der Veröffentlichung der Arbeit FEDERLEYS noch nichts über ihre Chromosomenzahlen bekannt war. Selbst die Anschauungen FEDERLEYS über die Chromosomenverhältnisse bei den *Satyrinen* haben durch meine Befunde beträchtliche Änderungen erfahren. Besonders wurden die Chromosomenzahlen nahe verwandter Arten beachtet, deren systematische Stellung selbst Spezialisten manchmal Schwierigkeiten bereitet.

Zum Unterschied von der bisher fast ausschließlich angewandten Methode, zum Zwecke des Studiums der Schmetterlingschromosomen Reifeteilungen in den Hoden erwachsener Raupen zu untersuchen, hielt ich mich überwiegend an die Untersuchung der Hoden des Falterstadiums. Wenn mit diesem Verfahren der Nachteil verbunden ist, daß häufig auch bei frisch ausgeschlüpften Faltern keine geeigneten Äquatorialplatten mehr zu finden sind, sondern nur atypische Teilungen, so bietet es doch andererseits den großen Vorzug, daß man nicht erst Raupen zu suchen und großzuziehen, sondern nur die weit leichter gewinnbaren Falter zu sammeln hat. Ein besonderer Vorteil liegt aber darin, daß so auch auf Reisen leicht Material für Untersuchungen gesammelt werden kann, während das Suchen von Raupen oder Puppen bei beschränkter Zeit nur selten gelingt.

Gegen die Verwendung der Falterhoden zur Feststellung der Chromosomenzahl dürfte kaum ein Einwand erhoben werden können. Zwischen den typischen und atypischen Reifeteilungen gibt es keine Übergangsstufen, in denen die beiden Teilungsvorgänge nicht jederzeit mit Sicherheit zu unterscheiden wären. Bei allen Tagfaltern sind atypische Teilungen mit ihren völlig unregelmäßigen Chromatinklumpen, in denen einzelne Chromosomen gar nicht oder sehr schwer erkennbar sind, auf den ersten Blick von typischen regelmäßigen Äquatorialplatten zu unterscheiden. Obschon im Falterstadium atypische Teilungen bedeutend überwiegen, so sind doch in den meisten Fällen auch noch normale Teilungen zu finden. Ein bequemer Wegweiser beim Erkennen der beiden Teilungsmodi ist die bekannte Tatsache, daß in derselben Cyste niemals typische und atypische Spermatocyten nebeneinander vorkommen (GATENBY, FEDERLEY, CRETSCHMAR u. a.). Auch ließen sich in keinem Falle, wo sowohl Raupen als auch Falter einer Art untersucht wurden, die geringsten Unterschiede in bezug auf die Zahl und Form der Chromosomen feststellen. Die einzige Abweichung, die zu bemerken war, betraf die Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialplatte, da diese in Äquatorialplatten aus Falterhoden nicht immer so regelmäßig kreisrund und in einer Ebene angeordnet sind wie bei Raupen, was wohl in dem beschränkten Raum, der solchen Cysten im Falterhoden zur Verfügung steht, seinen Grund haben dürfte.

Was allerdings die Häufigkeit typischer Teilungen anbetrifft, so lassen Falterhoden gelegentlich manches zu wünschen übrig. Es gibt Arten und ganze Gruppen, bei denen typische Reifungsteilungen fast stets in Falterhoden zu finden sind, während bei anderen Gruppen auch in den jüngsten Faltern kaum noch typische Mitosen vorkommen. Eine allgemein gültige Regel läßt sich in dieser Beziehung nicht aufstellen, da das Vorkommen bzw. Fehlen der typischen Mitosen außer

von der systematischen Zugehörigkeit auch von anderen Umständen abhängt. Am häufigsten findet man übersichtliche Äquatorialplatten bei Faltern von Lycaeniden, bei denen sogar gänzlich abgeflogene alte Falter manchmal noch gute Mitosen enthalten. Ähnliches gilt für die meisten Pieriden, bei denen Falter der *Euchloë*-Arten aus sogar 2mal überwinterten Puppen noch reichliche Reifeteilungen mit klaren Äquatorialplatten enthalten. Eine Ausnahme bilden unter den Pieriden die auch sonst fernstehenden *Leptidea*-Arten, bei denen nur frisch ausgeschlüpfte Falter der Sommergeneration noch eine oder zwei Cysten mit einer der beiden Reifeteilungen, meistens der zweiten, beherbergen, während Hoden von Faltern aus überwinterten Puppen nur ganz ausnahmsweise geeignete Teilungsfiguren enthalten.

Auch bei einigen Gattungen der Nymphaliden (*Neptis*, *Vanessa*) und Satyriden (*Pararge*, *Epinephela*, *Coenonympha*) gibt es in frischen Faltern noch genügend brauchbare Teilungen. Anders steht es hingegen bei vielen Papilioniden, einigen Gattungen der Nymphaliden (*Melitaea*), Satyriden und Hesperiden; bei *Erebica*- und *Melanargia*-Arten sowie den meisten Hesperiden muß man schon viele frischgeschlüpfte Falter untersuchen, bis man auf eine brauchbare Äquatorialplatte stößt. Bei *Erebica ottomana* traf ich unter 10 ganz jungen Faltern mit noch weichen Flügeln keine einzige typische Teilung mehr.

Die Beschaffenheit der Teilungsfiguren des Falterhodens ist ferner auch vom Entwicklungsmodus der Puppe abhängig. Im allgemeinen verhalten sich Falter nach subitaner Puppenentwicklung günstiger als Falter aus überwinterten Puppen, was in deren verhältnismäßig länger dauernden Entwicklung seinen Grund hat. Überwinterte Falter sind nicht verwendbar, da ihre Hoden weder Spermatocyten noch Spermien mehr enthalten und bereits in Rückbildung begriffen sind.

Wenn man also für die Untersuchung der Chromosomen Falterhodens verwenden will, muß man, je nach der systematischen Gruppe, Hoden mehrerer möglichst junger Falter fixieren, um sicher zu gehen, daß man typische Reifeteilungen findet.

In Fällen, in denen es sich um die Feststellung der Chromosomenzahl ganz nahe verwandter Arten handelt, die selbst im Falterstadium meist nur von Spezialisten unterschieden werden können, während Raupen oder Puppen vielfach gar nicht bekannt oder nicht voneinander zu unterscheiden sind, ist man, falls man nicht eine Zucht anlegen kann, ausschließlich auf die Untersuchung der Falterhodens angewiesen. Der getrocknete Falter bleibt dann auch als Beleg für die Richtigkeit der systematischen Bestimmung erhalten, während sich Raupen oder Puppen schwer oder gar nicht in ihrer völligen Naturtreue erhalten lassen.

Wie bereits erwähnt, bewährt sich die Entnahme der Falterhodens besonders gut auf Reisen, da das Aufziehen und Halten der Raupen auf längere Zeit sehr umständlich wäre. Ist man während des Tages unterwegs, so führt man sie am besten am Abend in der Unterkunft oder wenn dort keine geeigneten Lichtverhältnisse herrschen, noch an demselben Nachmittag aus. Der Falter wird wie gewöhnlich aufgespießt und mit ausgebreiteten Flügeln so auf einer Korkplatte aufgesteckt, daß der Hinterleib auf die Unterlage zu liegen kommt. Die mittleren 3—4 Tergiten des Abdomens werden von hinten nach vorne aufgeschnitten und mit einer Pinzette offen gehalten; mit einer anderen werden die Hoden herausgenommen. Häufig schrumpft der Hinterleib des am Morgen oder Vormittag gefangenen Falters bis zum Abend schon ziemlich ein, so daß die Hoden nicht leicht zu finden sind. In solchem Falle genügt es, einen Tropfen Wasser in das geöffnete Abdomen einzuführen, die Eingeweide samt den Hoden treten dann deutlich hervor. Allerdings muß die Entnahme sofort erfolgen, damit es nicht zu einer Schädigung des Gewebes kommt.

Zum Fixieren der Hoden wurde BOUVINSche Flüssigkeit angewandt, die für meinen Zweck stets gute Resultate lieferte. Die beiden Reifeteilungen, die ja für die Feststellung der Chromosomenzahlen allein ins Frage kommen, zeigen fast keinen Unterschied gegenüber der Fixierung mit Flemming. Spermatogonienteilungen werden wenig befriedigend fixiert, doch gibt in dieser Beziehung bei

Schmetterlingen auch Flemming keine wesentlich besseren Resultate. Vor anderen Fixierungsgemischen, namentlich FLEMMINGScher Lösung, hat die BOUVINSche Flüssigkeit den Vorteil, daß eine Einwirkung von  $\frac{1}{2}$  Stunde genügt, während auch bedeutend längere Einwirkung nicht schädlich ist, was bei dem sonst so geeigneten Gemisch von CARNOY der Nachteil ist. Auch die Nachbehandlung ist einfach. Die BOUVINSche Lösung ist daher besonders für Reisen geeignet. Ich verfähre nach einer in unserem Institut gebräuchlichen Methode: Nach dem Abspülen mit 80%igem Alkohol kommen die Objekte in Glastuben mit einem Gemisch von 80 Teilen 96%igem Alkohol und 16 Teilen konzentrierter Lösung von Lithiumkarbonat. Der darin enthaltene feine Niederschlag von Lithiumkarbonat zieht die Pikrinsäure in wenigen Stunden aus dem Objekt. Die Objekte können in diesem Gemisch beliebig lange gehalten werden. Vor der Weiterbehandlung wird mit 70%igem Alkohol abgespült, wodurch der Niederschlag restlos entfernt wird.

Geschnitten wurde 6–8  $\mu$  und gefärbt mit HEIDENHAINS Hämatoxylin.

Sämtliche Abbildungen in dieser Arbeit sind mit ABBESchem Zeichenapparat, Leitz-Apochromat 2 mm, Okular K 12 (15mal), bei 170 mm Tubuslänge auf dem Arbeitstisch gemacht, was einer 1430fachen Vergrößerung entspricht. Für den Druck wurden die Abbildungen auf 1325fache Vergrößerung reduziert.

### III. Die Chromosomenzahlen der *Rhopalocera* und *Hesperoidea*.

In der Tabelle 1 sind 85 von mir untersuchte Tagfalterarten mit ihren Chromosomenzahlen angeführt. Von 58 Arten waren die Chromosomenzahlen bisher noch nicht bekannt, von weiteren 5 nicht in der Spermatogenese. Die übrigen Tagfalterarten, deren Chromosomenformel uns bereits bekannt ist, größtenteils durch das Verdienst FEDERLEYS, sind in der Tabelle 2 enthalten.

Da nur die wenigsten der von mir angegebenen Fundorte bekannt sein dürften, sei im folgenden Verzeichnis die Lage der angeführten Orte näher erläutert.:

*Boussens*, Ort in Südfrankreich im  
Departement Hte Garonne,  
*Digne* (les Baines), Frankreich, Basses  
Alpes,  
*Eze*, Ort an der franz. Riviera, unweit  
von Nizza,  
*Fontainebleau*, Wald 60 km südöstlich  
von Paris,  
*Gavarnie*, Hautes Pyrénées (1350 m),  
*Gračani*, Dorf bei Zagreb, am Fuße des  
Sljeme-Gebirges,  
*Jelsa*, Ort auf der Insel Hvar in Dal-  
matien,  
*Krnica*, Tal in den Julischen Alpen  
(1000–1400 m),  
*Krško*, Ort an der Save in Slowenien,  
*Levens*, Ort bei Nizza,  
*Makarska*, Stadt in Dalmatien,  
*Marjan*, Halbinsel neben Split in Dal-  
matien,  
*Nice*, Nizza,  
*Oštrc*, Berg im Samoborer Gebirge bei  
Zagreb (753 m),

*Ozalj*, Ort 50 km westlich von Zagreb,  
*Podsused*, Ort an der Save, 10 km  
westlich von Zagreb,  
*Samobor*, Ort 20 km südwestlich von  
Zagreb,  
*Semnica*, Ortschaft an der Save in  
Slowenien,  
*Split*, Hafenstadt in Dalmatien,  
*Stenjevec*, Dorf 5 km westlich von Zagreb,  
*St.-Germain en Laye*, Städtchen bei  
Paris,  
*St. Martin-Vesubie*, Alpes Maritimes,  
1000 m,  
*Triglav*, der höchste Gipfel der Juli-  
schen Alpen (2864 m),  
*Velebit*, Küstengebirge in Kroatien,  
1758 m,  
*Veles*, Städtchen am Vardarfluße in  
Mazedonien,  
*Vence*, Ort bei Nizza,  
*Vernet-les-Bains*, Pyrénées orientales,  
600 m.

Tabelle 1.

Spezies	Haploidzahl der Chromo- somen in der Metaphase der		Zahl der unter- such- ten Indivi- duen	Lokalität
	I. Reife- teilung	II. Reife- teilung		
RHOPALOCERA.				
Familie <i>Pieridae</i> .				
Subfamilie <i>Dismorphinae</i> .				
1. <i>Leptidea sinapis</i> L. . . . .	28	28	1	Krško
	29	29	2	Krško, Podsused
	30	30	1	Krško
	31	31	1	Podsused
	34	34	2	Podsused
	35	35	2	Podsused
	39	39	2	Podsused
	41	41	2	Fontainebleau
2. <i>Leptidea morsei</i> FENT. . . . .	54	54	9	Podsused, Samobor, Zagreb
	53	53	1	Podsused
3. <i>Leptidea duponcheli</i> STGR. . . . .	104	104	4	Digne, Veles
Subfamilie <i>Pierinae</i> .				
4. <i>Gonepteryx rhamni</i> L. . . . .	31	31	3	Zagreb, Moskau (BEIJAJEFF)
	32	32	1	Gračani
5. <i>Colias croceus</i> FOURC. . . . .	31	31	5	Zagreb
6. <i>Colias hyale</i> L. . . . .	31	31	2	Zagreb, Vence
7. <i>Euchloë cardamines</i> L. . . . .	31	31	2	Podsused, Levens
8. <i>Euchloë crameri romana</i> . . . . .	31	31	2	Marjan, Veles
<i>Euchloë crameri occidentalis</i> VETY. . . . .	31	31	2	Nice
9. <i>Aporia crataegi</i> L. . . . .	26	26	1	Zagreb
10. <i>Pieris daphidica</i> L. . . . .	26	26	1	Zagreb
11. <i>Pieris napi</i> L. . . . .	25	25	4	Zagreb, St.-Germain-en-Laye
<i>Pieris napi bryoniae</i> OCHS. . . . .	25	25	1	Krnica
12. <i>Pieris ergane</i> HBN. . . . .	26	26	4	Split, Makarska
13. <i>Pieris manni</i> MAYER . . . . .	25	25	10	Zagreb, Split, Nice, Eze, St.-Martin-Vesubie
14. <i>Pieris rapae</i> L. . . . .	25	25	8	Zagreb, Podsused
15. <i>Pieris brassicae</i> L. . . . .	15	15	1	Samobor
Familie <i>Papilionidae</i> .				
Subfamilie <i>Papilioninae</i> .				
16. <i>Papilio machaon</i> L. . . . .	30	30	2	Podsused, Fontainebleau
17. <i>Papilio alexanor</i> ESP. . . . .	30	30	1	St. Martin-Vesubie
18. <i>Papilio feisthameli</i> DUP. . . . .	30	30	3	Vernet-les Bains
19. <i>Papilio podalirius</i> L. . . . .	30	30	2	Zagreb, Podsused
Subfamilie <i>Zerynthiinae</i> .				
20. <i>Zerynthia polyxena</i> SCHIFF. . . . .	31	31	5	Podsused
Subfamilie <i>Parnassiinae</i> .				
21. <i>Parnassius apollo</i> L. . . . .	30	30	2	Velebit, Gavarne

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Spezies	Haploïdzahl der Chromo- somen in der Metaphase der		Zahl der unter- such- ten Indivi- duen	Lokalität
	I. Reife- teilung	II. Reife- teilung		
Familie <i>Lycenidae</i> .				
Subfamilie <i>Lyceninae</i> <sup>1</sup> .				
22. <i>Lycena</i> <sup>2</sup> <i>dorilis</i> HUFN. . . . .	24	24	1	Ozalj
23. <i>Lycena</i> <i>phlaeas</i> L. . . . .	24	24	2	Zagreb
Subfamilie <i>Polyommatinae</i> <sup>3</sup> .				
24. <i>Synlarucus telicanus</i> LANG. . . . .	24	—	1	Makarska
25. <i>Scolitantides orion</i> PAL. . . . .	23	23	1	Podsused
26. <i>Philotes vicrama</i> MR. . . . .	24	—	1	Zagreb
27. <i>Glaucopsyche arion</i> L. . . . .	23	—	1	Stenjevec
28. <i>Glaucopsyche cyllarus</i> ROTT. . . . .	23	—	1	Oštrc
29. <i>Celastrina argiolus</i> L. . . . .	25	25	1	Podsused
30. <i>Cupido</i> <sup>4</sup> , <i>argiades</i> PALL. . . . .	24	24	15	Zagreb, Podsused, Boussens
31. <i>Cupido alcetas</i> HFFGG. . . . .	26	26	9	Podsused, Stenjevec
	25	25	4	Vernet-les-Bains
32. <i>Cupido decolorata</i> STGB. . . . .	25	25	26	Podsused, Samobor, Stenjevec
33. <i>Cupido minimus</i> FUESSL. . . . .	24	24	1	Podsused
34. <i>Cupido sebrus</i> OCHS. . . . .	24	—	2	Vence
35. <i>Polyommatus</i> <sup>5</sup> <i>argyrognomon</i> BRGSTR. <i>euergetes</i> STAUD. . . . .	24	24	2	Zagreb, Stenjevec
36. <i>Polyommatus idas croatica</i> GRD. . . . .	24	—	2	Velebit (Metla, 1300 m)
<i>Polyommatus idas armoricana</i> OBTH. . . . .	24	24	1	Fontainebleau
37. <i>Polyommatus argus</i> L. . . . .	23	23	3	Zagreb, Fontainebleau
38. <i>Polyommatus eumedon</i> ESP. . . . .	24	24	2	Velebit (Visočica, Metla, 1300 bis 1550 m)
39. <i>Polyommatus medon</i> HUFN. ( <i>astrarche</i> ) . . . . .	24	24	1	Makarska
40. <i>Polyommatus semiargus</i> ROTT. . . . .	24	24	2	Vence, Samobor
41. <i>Polyommatus eros</i> OCHS. . . . .	23	23	1	Velebit (Sv. Brdo, 1753 m)
42. <i>Polyommatus icarus</i> ROTT. . . . .	23	23	2	Zagreb, Nice
43. <i>Polyommatus thersites</i> CANT. . . . .	24	24	4	Podsused, Veles
44. <i>Polyommatus amandus</i> SCHN. . . . .	24	24	2	Digne, Vence
45. <i>Polyommatus hylas</i> ESP. . . . .	24	24	1	Vence
46. <i>Polyommatus bellargus</i> ROOT. . . . .	45	45	7	Samobor, Makarska, Jelsa, Fontainebleau
47. <i>Polyommatus coridon</i> PODA. . . . .	90	90	8	Sevnica, Samobor, Velebit
48. <i>Polyommatus meleager</i> ESP. . . . .	24	24	6	Samobor

<sup>1</sup> Da die üblichen alten Systeme der *Polyommatae* (*Lyceninae* auct.) im SEITZ, STAUDINGER-REBEL, SPULER usw. nicht einmal auf der Unterscheidung der grundsätzlichsten Typen dieser Gruppe basieren, sondern ein völliges Durcheinander darstellen, folgt die Anordnung der *Polyommatae* hier dem neuen System von FORSTER (1938), das in seinen Hauptzügen mit dem Entwurf meines Systems (1930/31) im allgemeinen übereinstimmt, obwohl es von diesem hier und da durch beträchtliche Änderungen, Ergänzungen und Verbesserungen abweicht.

<sup>2</sup> *Chrysophanus* auct. — <sup>3</sup> *Lyceninae* auct. — <sup>4</sup> *Everes* auct. — <sup>5</sup> *Lycena* auct.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Spezies	Haploidzahl der Chromosomen in der Metaphase der		Zahl der untersuchten Individuen	Lokalität
	I. Reifeteilung	II. Reifeteilung		
Familie <i>Nymphalidae</i> .				
Subfamilie <i>Satyrinae</i> .				
49. <i>Coenonympha arcania</i> L. . . . .	32	32	1	Fontainebleau
50. <i>Coenonympha tiphon occupata</i> RBL. . . . .	29	29	2	Velebit (Visočica, 1550 m)
51. <i>Epinephele jurtina</i> L. . . . .	29	29	2	Zagreb, Fontainebleau
52. <i>Satyrus hermonie</i> L. . . . .	29	29	1	Samobor
53. <i>Satyrus dryas</i> SCOP. . . . .	—	—	1	Podsused. 54 Spermatogonien
54. <i>Pararge megera</i> L. . . . .	29	29	1	Zagreb
<i>Pararge megera lyssa</i> B. . . . .	29	29	3	Makarska
55. <i>Pararge maera pannonica</i> LRK. . . . .	28	28	1	Samobor
<i>Pararge maera adrasia</i> Hb. . . . .	28	28	2	Digne
56. <i>Melanargia galathea</i> L. . . . .	24	—	1	Samobor, Lourdes. 48 Spermatogonien
57. <i>Melanargia lachesis</i> HBN. . . . .	—	24	1	Vernet-les-Bains
58. <i>Erebia epiphron cassiope</i> F. . . . .	17	17	1	Velebit (Zavižan, 1600 m)
59. <i>Erebia pharte</i> HBN. . . . .	19	—	1	Triglav-Gebiet
60. <i>Erebia medusa</i> F. . . . .	—	—	1	Velebit. 22 Spermatogonien
61. <i>Erebia oëme</i> HBN. . . . .	14	14	2	Velebit. 2n = 28
62. <i>Erebia melas</i> HRBST. . . . .	21	21	5	Velebit (1700 m), auch Zucht in Zagreb
63. <i>Erebia nerine</i> FR. . . . .	22	22	1	Julische Alpen
64. <i>Erebia glacialis</i> ESP. . . . .	19	19	2	Triglav (2400 m)
65. <i>Erebia pronoe</i> ESP. . . . .	—	—	1	Velebit. Eireifung 19, Spermatogonien 38
66. <i>Erebia gorge</i> ESP. . . . .	21	21	2	Velebit, Triglav-Gebiet 2000m
67. <i>Erebia aethiops</i> ESP. . . . .	—	21	1	Stenjevec
68. <i>Erebia ottomana</i> H.-S. . . . .	40	40	2	Velebit, Zucht in Zagreb
Subfamilie <i>Nymphalinae</i> .				
69. <i>Argynnis euphrosine</i> L. . . . .	31	31	1	Fontainebleau
70. <i>Argynnis adippe</i> L. . . . .	29	29	1	Fontainebleau
71. <i>Melitaea aurinia</i> ROTT. . . . .	30	30	1	Fontainebleau
72. <i>Vanessa polychloros</i> L. . . . .	31	31	1	Fontainebleau
73. <i>Vanessa zanthomelas</i> ESP. . . . .	31	31	1	Samobor
74. <i>Pyrameis cardui</i> L. . . . .	31	31	1	Zagreb
75. <i>Araschnia levana</i> L. . . . .	31	31	2	Stenjevec, Zagreb
76. <i>Neptis aceris</i> LEP. . . . .	30	30	2	Stenjevec, Krško
Familie <i>Libytheidae</i> .				
77. <i>Libythea celtis</i> FUESSL. . . . .	31	31	1	Velebit, 800 m
HESPEROIDEA.				
Familie <i>Hesperidae</i> .				
78. <i>Augiades sylvanus</i> ESP. . . . .	29	—	2	Zagreb
79. <i>Thanaos tages</i> L. . . . .	31	31	1	Podsused
80. <i>Hesperia alveus</i> L. . . . .	24	24	2	Stenjevec
81. <i>Hesperia serratalae</i> RMB. . . . .	30	—	1	Fontainebleau
82. <i>Hesperia onopordi</i> RMB. . . . .	30	30	1	Vence
83. <i>Hesperia sao</i> HBN. . . . .	—	31	1	Ljubljana
84. <i>Hesperia orbifer</i> HBN. . . . .	—	30	1	Split
85. <i>Carcharodus alceae</i> ESP. . . . .	31	31	1	Samobor



Tabelle 2.

Spezies	Haploide Chromosomenzahl		Spezies	Haploide Chromosomenzahl	
	Spermatogenese	Oo-genese		Spermatogenese	Oo-genese
Familie <b>Papilionidae.</b>			23. <i>Argynnis aglaja</i> L. . . . .	29	29
1. <i>Papilio rutulus</i> . . . . .	28	—	24. <i>Argynnis paphia</i> L. . . . .	29	29
2. <i>Parnassius mnemosyne</i> L. . . . .	—	29	25. <i>Argynnis niobe</i> L. . . . .	29	29
Familie <b>Pieridae.</b>			Subfamilie <i>Satyrinae.</i>		
3. <i>Colias palaeno</i> L. . . . .	31—32	31	26. <i>Erebia ligea</i> L. . . . .	—	29
4. <i>Colias hecla</i> LET. . . . .	—	31	27. <i>Erebia lappona</i> ESP. . . . .	—	28
Familie <b>Nymphalidae.</b>			28. <i>Erebia dissa</i> THNB. . . . .	—	29
5. <i>Limenitis populi</i> L. . . . .	30	30	29. <i>Oeneis jutta</i> HBN. . . . .	—	32
6. <i>Limenitis camilla</i> SCHIFF. . . . .	31	—	30. <i>Satyrus semele</i> L. . . . .	29	29
7. <i>Vanessa antiopa</i> L. . . . .	30—31	31	31. <i>Pararge aegeria</i> L. . . . .	28	28
8. <i>Vanessa urticae</i> L. . . . .	31	—	32. <i>Pararge hiera</i> F. . . . .	29	29
9. <i>Polygonia c-album</i> L. . . . .	31	31	33. <i>Aphantopus hyperantus</i> L. . . . .	—	29
10. <i>Pyrameis atalanta</i> L. . . . .	31	—	34. <i>Coenonympha iphis</i> SCHIFF. . . . .	—	29
11. <i>Melitaea maturna</i> . . . . .	31	—	35. <i>Coenonympha pamphilus</i> L. . . . .	29	28, 29
12. <i>Melitaea iduna</i> DALM. . . . .	—	31	Familie <b>Lycanidae.</b>		
13. <i>Melitaea cinzia</i> L. . . . .	—	31	36. <i>Thecla pruni</i> L. . . . .	23	—
14. <i>Melitaea athalia</i> ROTT. . . . .	31	31	37. <i>Callophrys rubi</i> L. . . . .	—	23
15. <i>Argynnis aphirape</i> HBN. . . . .	30	30	38. <i>Zephyrus betulae</i> L. . . . .	—	16?
16. <i>Argynnis selene</i> SCHIFF. . . . .	30	30	39. <i>Chrysophanus virgaureae</i> L. . . . .	24	24
17. <i>Argynnis pales</i> SCHIFF. . . . .	30	29—30	40. <i>Chrysophanus hippothoe</i> L. . . . .	—	24
18. <i>Argynnis freija</i> THNB. . . . .	31	31	41. <i>Lycena optilete</i> KNOCH . . . . .	24	24
19. <i>Argynnis frigga</i> THNB. . . . .	—	31	Familie <b>Hesperiidae.</b>		
20. <i>Argynnis thore</i> HBN. . . . .	—	30	42. <i>Adopoea lineola</i> L. . . . .	29	29
21. <i>Argynnis ino</i> ROTT. . . . .	12—13	13—14	43. <i>Hesperia malvae</i> L. . . . .	—	31
22. <i>Argynnis lathonia</i> L. . . . .	30	30			

Die Zahl der von jeder Art bzw. jedem Individuum durchgesehenen Äquatorialplatten ist in der Tabelle nicht angeführt. Sie liegt durchschnittlich zwischen 10 und 30. Von Arten, denen entweder wegen ihrer abweichenden Chromosomenzahl oder aus anderen Gründen besonderes Interesse gewidmet wurde, sind sämtliche klaren Platten durchgezählt worden (in einem Falle 64). Nur für *Erebia aethiops*, *Glaucopsyche arion*, *Polyommatus eros* und *Hesperia orbifer* beruhen meine Angaben auf nicht mehr als 2—3 Zählungen, da nur soviel brauchbare Platten zu finden waren. Bei *Erebia medusa* waren zwar keine Reifeteilungen vorhanden, aber an 4 Spermatogonienteilungen konnte dank den großen Chromosomen genau die diploide Chromosomenzahl festgestellt werden. Ähnlich, jedoch weniger sicher, konnte auch die diploide Chromosomenzahl bei *Erebia pronoe* und *Satyrus dryas* festgestellt werden.

Allgemeine Übersicht über die Chromosomenzahlen der Tagfalter. Im ganzen sind uns jetzt Chromosomenzahlen von 128 Tagfalterarten bekannt; von etwa 270 in Europa vorkommenden Arten ist das beinahe die Hälfte (46%).



Das folgende Diagramm I (Abb. 1) stellt die Variationsreihe der Chromosomenzahlen der Tagfalter dar. Dabei sind auch alle häufigen Zahlen der karyotypisch unbeständigen Arten mitgezählt, weswegen die so erhaltene Artenzahl die Zahl der tatsächlich bestehenden Arten um 11 übersteigt. Die Zahlen in Klammern rühren alle von der unbeständigsten Art *Leptidea sinapis* her. Das Diagramm III stellt die Variationsreihe der Lepidopteren dar, wie sie von BELAJEFF zusammengestellt worden ist. Sofort fällt der große Unterschied der beiden Diagramme auf: die Variations-

reihe der Tagfalter zeigt zwei fast gleichwertige

Häufigkeitsmaxima, das eine bei der Zahl 24, das andere bei 31. Richtig ist zwar, daß das erste Diagramm nicht die tatsächlichen Verhältnisse bei den Tagfaltern wiedergibt, da meinerseits gerade die Familie *Lycaenidae*, bei der die Zahl 24 überwiegt, am ausführlichsten zur Untersuchung herangezogen wurde; bei gleich ausführlicher Bearbeitung aller Gruppen würde das Maximum bei der Zahl 24 jedenfalls niedriger ausfallen. Aber bei dem

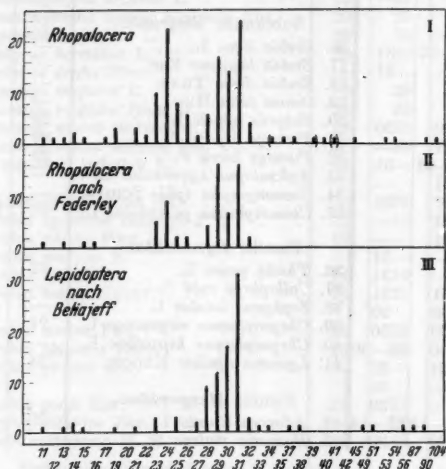


Abb. 1. Häufigkeit der Chromosomenzahlen bei Lepidopteren (vgl. Text).

großen Anteil, den die *Lycaeniden* an den Tagfaltern haben, wird die Zahl 24 auch weiterhin merklich heraustreten. Dies bestätigt am besten das von FEDERLEY zusammengestellte Diagramm II, bei dem keine Bevorzugung bestimmter Gruppen anzunehmen ist. Die Ähnlichkeit, die beide Tagfalterdiagramme miteinander haben, ist jedenfalls weit größer als die, die jedes von ihnen mit dem allgemeinen Diagramm der Lepidopteren hat.

Bemerkenswert ist weiterhin, daß nach den Befunden FEDERLEYS nicht die Zahl 31, sondern 29 die häufigste Chromosomenzahl der Tagfalter wäre, so daß die Frage entsteht, ob die Zahl 31 überhaupt als Grundzahl der Tagfalter gelten kann. Es fragt sich sogar weiter, ob bei den Tagfaltern nur eine Zahl als Grundzahl gelten kann, da ja die Zahlen 29 und 31 miteinander wetteifern. Unmöglich wäre es aber, nur die Zahlen 29 und 31 als die Grundzahlen zu betrachten, ohne auch die

Zahl 30 hinzuzunehmen. Rechnet man jedoch auch die Zahl 30 zu den Grundzahlen, so ist auch die Zahl 24 hinzuzufügen, da sie ja häufiger als 30 ist! Tatsächlich kann bei den Tagfaltern von einer gemeinsamen Grundzahl nicht gesprochen werden; denn eine ganze große Familie (*Lycaenidae*) hat die Zahl 24 als Grundzahl; bei den Satyrinen überwiegt neben vielen niedrigeren, bis zu 11 herabsteigenden Zahlen die Zahl 29, während die Zahl 31 oder 30 in dieser Gruppe bisher überhaupt nicht gefunden worden ist. Schließlich sind bei den Pieriden zwei Zahlen, 25 und 31, fast gleich häufig. Nur bei den Papilioniden und Nymphalinen ist die übliche Grundzahl der Lepidopteren — 31 — die häufigste.

Wird trotz der oben erklärten Schwierigkeiten doch die Zahl 31 als Grundzahl auch der Tagfalter angenommen, so fällt der große Unterschied in der Häufigkeit zwischen den Plus- und Minusvarianten ins Auge. Schon die der Grundzahl nächstfolgende Zahl 32 ist selten, während alle über 32 hinausgehenden Zahlen nur je einmal vertreten sind. Ganz anders verhalten sich die niedrigeren Zahlen, die auch in der allgemeinen Schmetterlingsreihe weit häufiger vorkommen als die Plusvarianten. Wie im Kapitel V noch näher besprochen wird, dürfte aus dieser Erscheinung manches über die Entstehungsweise niederzahliger wie hochzahliger Karyotypen zu entnehmen sein.

Unter der ziemlich großen Zahl untersuchter Arten erscheinen mehrere für die Lepidopteren bisher noch nicht bekannte Chromosomenzahlen; das sind 17, 22, 35, 39, 40, 41, 45, 53, 54, 90 und 104.

**Niedrigste und höchste Chromosomenzahlen.** Unter den Tagfaltern sind uns jetzt Arten mit den niedrigsten und höchsten Chromosomenzahlen der Schmetterlinge bekannt. Die niedrigste Zahl kommt bei *Erebia medusa* vor, bei welcher FEDERLEY in der Oogenese 11 Chromosomen fand, während ich damit übereinstimmend in den Spermatogonien die diploide Zahl 22 zählen konnte. Dieselbe niedrige Zahl ist bereits von dem Nachtfalter *Orgyia thyellina* bekannt gewesen. Als höchste Chromosomenzahl der Tagfalter führt noch FEDERLEY 32 Chromosomen bei *Oeneis jutta* HBN. an. Diese Zahl ist durch meine Befunde von einer Reihe weit höherer Zahlen überholt worden; darunter hat *Leptidea duponcheli* STGR. mit ihren 104 Chromosomen die höchste Chromosomenzahl der Tagfalter und die zweithöchste der Lepidopteren überhaupt. Es ist eigenartig, daß dieselbe hohe Zahl auch bei 2 Crustaceen, *Cambarus immutis* (FASTEN 1914) und *Paralithodes camtschatica* (NILJAMA, 1935), gefunden worden ist.

**Vervielfachte Chromosomenzahlen.** Zu den auffallendsten Ergebnissen der Untersuchungen FEDERLEYS gehört der Befund, daß in 3 Tagfalterfamilien je eine Art mit besonders niedrigen Zahlen vorkommt. Demgegenüber sind aber die interessanteste Entdeckung meiner Untersuchungen gerade die hohen Zahlen, die ganze vielfache Grundzahlen einzelner Familien oder Gattungen darstellen. Das sind die Sätze

23—45—90 in der Gattung *Polyommatus* (*Lycaena*), 28—54—104 in der Gattung *Leptidea* und 20—40 bei *Erebia*. Diese Sätze sind rein zahlenmäßig entweder genau polyploid oder nur wenig davon abweichend, wie es bei den Lepidopteren noch nicht bekannt waren; daher sind wir gezwungen, die bisher vorherrschende Ansicht, welche die Entstehung hoher Sätze der Lepidopteren ausschließlich in der Fragmentation der Chromosomen sah, einer gründlichen Überprüfung zu unterziehen. Dieser Frage ist das VI. Kapitel gewidmet.

*Größe und Form der Chromosomen.* Was Form und Größe der Chromosomen anbelangt, wäre außer in einem Falle nichts Neues zu berichten.

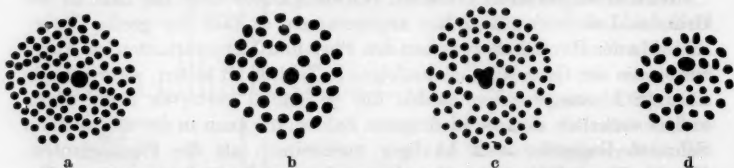


Abb. 2a—d. Vervielfachte Chromosomensätze mit je einem großen Chromosom. a *Leptidea duponcheli*, b *Polyommatus bellargus*, c *P. coridon*, d *Erebia ottomana*. I. Reifeteilung.

Die untersuchten Falterarten zeigen kleine, runde oder ovale Chromosomen, die in vielen Karyotypen annähernd gleich groß sind. Häufiger zeigen einzelne oder mehrere Chromosomen Größenunterschiede, aber nur selten so bedeutende, daß die einzelnen Chromosomen einwandfrei zu identifizieren sind. Letzteres ist nur bei solchen Chromosomen möglich, die die übrigen durch ihre Größe beträchtlich überragen. Dies kommt am deutlichsten bei den Karyotypen mit den vervielfachten Chromosomenzahlen vor, besonders bei *Leptidea duponcheli*, *Polyommatus coridon*, *P. bellargus* und *Erebia ottomana* (Abb. 2, 7, 8 und 9), bei denen neben fast gleichmäßig großen Chromosomen je ein die übrigen 2mal oder 4mal an Größe übertreffendes Chromosom auftritt. Ein sehr großes Chromosom, das deutlich von anderen zu unterscheiden ist, treffen wir regelmäßig auch bei den Hesperiden (Abb. 13, S. 188). Außerdem stößt man auf erkennbar große Chromosomen in den Karyotypen mit niedrigen Zahlen, wie bei *Erebia* und *Polyommatus* (Abb. 3 und 10), doch treten in solchen geringzahligen Karyotypen die großen Chromosomen nicht so stark hervor, da immer Übergangsgrößen von den größten zu den kleinsten Chromosomen vorhanden sind. In allen diesen Fällen behalten aber die großen Chromosomen stets ihre runde oder etwas viereckige Gestalt bei, wie sie auch die kleineren Chromosomen haben. Eine Ausnahme bildet nur das große Chromosom von *Polyommatus coridon*, das häufig Einschnürungen oder Aufspaltung zeigt.

Von dieser relativen Einheitlichkeit hebt sich durch ihre abweichende Chromosomengestalt nur *Leptidea sinapis* besonders ab. In den Chromo-

somensätzen dieser karyotypisch so variablen Art findet man immer einige Chromosomen, die durch ihr langes stäbchenförmiges sowie v-förmiges Aussehen eine Ausnahme unter den Lepidopteren bilden. Soweit heute bekannt ist, zeichnet sich nur die in bezug auf die Chromosomenzahl auch etwas variable Art *Phragmatobia fuliginosa* (SEILER, 1925) durch ein stäbchenförmiges Chromosom aus, das als Heterochromosom gedeutet wird. *Leptidea sinapis* zeigt aber in sämtlichen bisher gesehenen Äquatorialplatten mehrere lange gerade oder leicht gebogene Chromosomen sowie einige v-förmige (Abb. 4). Ähnliches hat auch FEDERLEY bei der finnländischen *sinapis* bemerkt, doch kommt dort nur ein langes Chromosom vor. Da eine solche Chromosomenform den Lepidopteren sonst gänzlich fremd ist, muß sie als ein sekundäres Merkmal betrachtet werden, und in Anbetracht dessen ist die Herkunft dieser abweichend aussehenden Chromosomen auf Bindung von Chromosomen zurückzuführen, worüber noch im IV. Kapitel eingehender gesprochen wird. Daß es sich bei diesen Chromosomen um keine Fixationsartefakte handelt, beweist ihre stets gleiche Zahl, Form und Größe in jeder Spermatocyte eines und desselben Individuums; bei verschiedenen Individuen ein und desselben Geleges kann sie aber verschieden sein.

#### IV. Die Regel der Zahlenkonstanz und deren Abweichungen.

Aus dem uns vorliegenden verhältnismäßig noch geringem Material kann geschlossen werden, daß bei den Lepidopterenarten die Chromosomenzahl im allgemeinen konstant ist. Dies gilt sowohl für die Individuen eines beschränkten Gebietes als auch für geographische Rassen einer Art. Unter etwa 70 Tagfalterarten, deren Chromosomenzahl uns in der Spermatogenese in mehr als von einem Exemplar bekannt ist, sind etwa 58 Arten mit konstanter Zahl gefunden worden, was 83% ausmacht.

Die Abweichungen von der Normalzahl sind zweckmäßig in folgende 4 Gruppen einzuteilen: Zellabweichungen, Cystenabweichungen, individuelle Verschiedenheiten und Rassenunterschiede.

Die Zell- und Cystenabweichungen sind unregelmäßige, wohl meist durch verschiedene Störungen hervorgerufene Aberrationen der Normalzahl, die entweder in einer oder zwei Spermatocyten I oder II oder in allen Zellen einer Spermatocytencyste auftreten. Solche Abnormitäten sind mir nur in der Vergrößerung der Normalzahl bekannt und werden zum guten Teil auf Nichtpaarung homologer Chromosomen zurückgeführt, wie dies auch FEDERLEY annimmt, der ebenfalls mehrere solche Fälle beschrieben hat. Ich selbst habe sie seltener gefunden, und zwar bei einem Imago von *Colias hyale*, in dessen Hoden sich neben 12 Spermatocyten I und II mit 31 Chromosomen auch eine Spermatocyte mit

32 Chromosomen befand. Bei einem Falter von *Cupido decolorata* fand ich neben 15 Spermatocyten I mit 25 Chromosomen eine einzige mit 27, und bei einem zweiten Falter derselben Art fanden sich neben 30 Spermatocyten I mit 25 Chromosomen auch 2 Zellen mit 26 Chromosomen. In allen diesen Fällen treten entsprechend der vergrößerten Chromosomenzahl 2 bzw. 4 winzige Chromosomen von der Größe der 2. Reifeteilung auf, die wohl durch Ausbleiben der Paarung zustandegekommen sein dürften, da sie sonst normal in dem Teilungsspindel liegen. Bei Chromosomenfragmentation bleibt der ansatzlose Teil nicht nur außerhalb der Äquatorialplatte, sondern häufig auch ganz außerhalb der Teilungsspindel und gelangt ungeteilt nur in eine Tochterzelle.

Neben solchen Unregelmäßigkeiten stieß ich in meinem Material auch auf polyploide Zahlen. So sind bei einem Imago von *Leptidea sinapis* mit 39 Chromosomen 2 Spermatocyten II mit 78 Chromosomen vorhanden gewesen. Bei *Cupido argiades* ( $n = 24$ ) fand sich unter den Spermatocyten II eine große Zelle mit 48 Chromosomen. Auch bei *Polyommatus coridon* habe ich 2 polyploide Zellen gefunden, aber in schräger Stellung, so daß sich die Chromosomenzahl nicht feststellen ließ. Bei *Pyrameis cardui* fand sich sogar eine ganze Cyste II. Ordnung, deren sämtliche Zellen die verdoppelte Chromosomenzahl führten.

Wichtiger als die zufälligen Abnormitäten sind die *individuellen* und *rassischen Verschiedenheiten*. Erstere fand ich bei 2 Faltern von *Gonepteryx rhamni*, von denen einer konstant 31, der andere 32 Chromosomen führt. Weiter hat von 10 *Leptidea morsei* einer in allen Spermatocyten I und II nur 53 anstatt 54 Chromosomen und ein Chromosom zeigt deutlich seine Doppelheit. Schließlich sind bei *Leptidea sinapis* bisher 8 verschiedene in jedem Individuum aber konstante Chromosomenzahlen gefunden worden, zu denen sich noch weitere 2 von den finnländischen Faltern gesellen. Es sind dies die Zahlen 26—31, 34, 35, 39 und 41. Wie aus der Gestalt der Chromosomen geschlossen werden kann, ist die Ursache dieser großen Inkonstanz nur in der Verbindung mehrerer Chromosomen zu suchen.

Ein bedeutender Teil von regelmäßigen Verschiedenheiten der Chromosomenzahlen der Schmetterlinge entfällt auf *Rassenunterschiede*. Durch FEDERLEYS wie durch meine eigenen Untersuchungen hat sich ein Vergleichsmaterial angesammelt, das schon vorsichtige Schlüsse über die Konstanz bzw. Verschiedenheit der Chromosomenzahlen bei Individuen von verschiedenen Stellen des Verbreitungsgebietes einer Art erlaubt. 38 Arten sind zum Teil von FEDERLEY aus Finnland, von BELIAJEFF aus Rußland und von mir aus Südost- und Westeuropa untersucht worden; darunter befinden sich 10 Arten, die nicht überall dieselbe Chromosomenzahl haben. Es sind dies:

	Spezies	Südost- und Mittel- europa	West- europa	Finn- land	Ruß- land	Amerika
1	<i>Papilio machaon</i> L. . . . .	30	30	30—33	—	—
2	<i>Aporia crataegi</i> L. . . . .	26	—	25—26	25	—
3	<i>Gonepteryx rhamni</i> L. . . . .	31, 32	—	31—32	31	—
4	<i>Leptidea sinapis</i> L. . . . .	28—39	41	26—28	—	—
5	<i>Pieris rapae</i> L. . . . .	25	25	26	25	—
6	<i>Vanessa antiopa</i> L. . . . .	—	—	31	—	30
7	<i>Cupido alcetas</i> HFRGG. . . . .	26	25	—	—	—
8	<i>Polyommatus astrarche</i> BRGSTR. . . . .	24	—	23	—	—
9	<i>Polyommatus thersites</i> CANT. . . . .	24	25	—	—	—
10	<i>Polyommatus amandus</i> SCHN. . . . .	—	24	23	—	—

In diesem Verzeichnis geographisch unbeständiger Arten fällt auf, daß fast deren Hälfte auf individuell unbeständige Arten entfällt. Somit haben wir es mit richtigen geographischen Unterschieden nur bei 6 Arten zu tun. Von diesen darf *Cupido alcetas* nicht mitgezählt werden, da die systematischen Verhältnisse dieser Art in Westeuropa noch nicht endgültig geklärt sind; denn es ist nicht ausgeschlossen, daß die in Westeuropa fliegende Form zu *C. decolorata* gehört, die aber normal 25 Chromosomen hat.

Unter beinahe 70 Tagfalterarten, deren Chromosomenzahl uns in der Spermatogenese in mehr als von je einem Exemplar bekannt ist, sind etwa 12 Arten mit inkonstanter Zahl gefunden worden, was 17% ausmacht. Dieser Prozentsatz wird aber in Wirklichkeit wohl sicher noch niedriger sein, da noch eine ganze Reihe von FEDERLEY in der Oogenese untersuchter Arten dieselbe Zahl wie die entsprechenden Männchen zeigt. Man kann also annehmen, daß die Regel von der Zahlenkonstanz der Chromosomen auch für die Tagfalter gültig ist.

Über schöne Beispiele der Chromosomenkonstanz bei den Tagfaltern verfüge ich bei 3 Arten aus der Lycaenidengattung *Cupido*. *C. argiades*, *C. alcetas* und *C. decorata* sind nächstverwandt, haben aber konstant verschiedene Chromosomenzahlen. 26 Exemplare von *C. decolorata* wiesen 25 Chromosomen auf; nur bei einem Falter sind neben dieser Zahl auch 2 Spermatocyten mit 26, und bei einem zweiten Falter ist eine Spermatocyte mit 27 Chromosomen gefunden worden. Bei 9 *alcetas* sind dagegen stets 26 und bei 15 *argiades* ausnahmslos nur 24 Chromosomen gezählt worden. Auch 10 Falter von *Pieris manni* aus verschiedenen Gebieten Europas haben alle 25 Chromosomen.

Von den Arten, deren Chromosomenzahl auf verschiedenen, auch weit entfernten Fundplätzen konstant gefunden worden ist, verdienen besondere Beachtung die Arten mit vervielfachten Chromosomenzahlen: *Polyommatus bellargus* und *Leptidea duponcheli*. Bei der ersten Art ist ihre verdoppelte Chromosomenzahl 45 sowohl bei den Faltern aus Fontainebleau als auch aus Nord-Kroatien, dem dalmatinischen Kroatien



und von der adriatischen Insel Hvar gefunden worden. Ebenso ist die gleiche hohe Chromosomenzahl von *Leptidea duponcheli* ( $n = 104$ ) neuerdings von mir (1939) auch für die Falter von der südlichen Balkanhalbinsel (Veles, Mazedonien) nachgewiesen worden, was um so mehr ins Gewicht fällt, als die Falter beider Gebiete vollkommen isoliert sind, da in dem Gebiet zwischen Südfrankreich und Mazedonien *L. duponcheli* gänzlich fehlt.

Der Nachweis der Zahlenkonstanz solcher hochzahliger Karyotypen ist deswegen von Interesse, weil sich daraus manche Schlüsse auf ihre Entstehung ziehen lassen. Es ist nämlich höchst unwahrscheinlich, daß sich die gleiche gewaltige Chromosomenänderung bei allen Individuen einer Art auf dem ganzen Verbreitungsgebiet in verhältnismäßig kurzer Zeit abgespielt hat. Deswegen muß angenommen werden, daß die Veränderung aus einem Verbreitungszentrum vor sich ging und sich in Verbindung damit auch die Artbildung vollzog. Erst eine auf diese Weise neu entstandene Art dürfte dann allmählich ihr rezentales Verbreitungsgebiet besiedeln. Anders wäre nicht begreiflich, warum innerhalb einer Familie oder Gattung nur eine Art auf ihren ganzen Areal stets diese gleiche abnorme Chromosomenzahl hat, während alle übrigen Arten der betreffenden Gruppe durchwegs nur normale Zahlen führen und sich nirgends Übergänge zu der abnormen Chromosomenzahl zeigen.

Um dieser Annahme weitere Beweiskraft zu verschaffen, wäre es wünschenswert, auch die übrigen polyploid erscheinenden Arten von den verschiedensten und möglichst weit entfernten Gebieten auf ihre Chromosomenzahl hin zu prüfen. Die tetraploid erscheinende *Polyommatus coridon* zeigt zwar sowohl im kroatischen Küstenland (Velebitgebirge) wie auch in der Niederung des oberen Savelaufes bei Sevnica dieselbe Chromosomenzahl 90, aber die beiden Gebiete sind nicht beträchtlich voneinander entfernt. Von besonderem Interesse wäre die Untersuchung der *Leptidea morsei* ( $n = 54$ ), da sie ein riesiges Verbreitungsgebiet, nämlich von Mitteleuropa bis Japan, hat.

#### V. Niedrige Chromosomenzahlen und deren Entstehung.

FEDERLEY hat unter den Tagfaltern 3 Arten mit verhältnismäßig niedrigen Chromosomenzahlen gefunden, eine vierte solche Art (*Pieris brassicae*) war schon von früher bekannt, während von mir in der Gattung *Erebia* eine Reihe von Arten entdeckt wurde, deren Chromosomenzahlen von den mittleren zu den niedrigsten führen. In der Tabelle 3 sind solche Tagfalterarten mit niedrigen Chromosomenzahlen angeführt.

Es fällt auf, daß die Chromosomenzahlen von *Pieris brassicae*, *Argynnis ino* und *Erebia medusa* nahe der Hälfte ihrer Gattungsgrundzahlen liegen.

Eine allgemeine Erscheinung der Arten mit niedrigen Chromosomenzahlen ist, daß mit der Abnahme der Zahl der Chromosomen die Chromo-



Tabelle 3. Tagfalterarten mit niedrigen Chromosomenzahlen.

Spezies	Chromosomenzahl	Grundzahl oder Mittelzahl der Gattung
<i>Pieris brassicae</i> . . . . .	14, 15	25 bzw. 31
<i>Argynnis ino</i> . . . . .	12, 13	29
<i>Erebia nerine</i> . . . . .	22	20
<i>Erebia melas, gorge, aethiops</i> . . . . .	21	20
<i>Erebia pharte, celo, promœ</i> . . . . .	19	20
<i>Erebia epiphron</i> . . . . .	17	20
<i>Erebia oëme</i> . . . . .	14	20
<i>Erebia medusa</i> . . . . .	11	20
<i>Zephyrus betulae</i> . . . . .	16	23 oder 24

somen selbst größer werden, wovon man sich bei dem Vergleich der mikrophotographischen Aufnahmen von FEDERLEY leicht überzeugen kann.

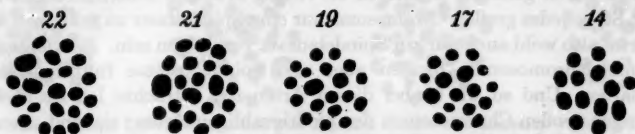


Abb. 3. Chromosomensätze einiger *Erebia*-Arten: 22 *E. nerine*, 21 *E. melas*, 19 *E. pharte*, 17 *E. epiphron*, 14 *E. oëme*. I. Reifeteilung.

Eine solche Vergrößerung der Chromosomen wäre auch bei der Gattung *Erebia* in Anbetracht der bei ihr stattfindenden stufenweisen Abnahme der Chromosomenzahl zu erwarten. In Wirklichkeit ist sie aber nur teilweise vorhanden. Bei Sätzen (Abb. 3) mit größerer Chromosomenzahl findet man nämlich Chromosomen verschiedener Größe, während bei dem Satz mit der niedrigsten Zahl die Chromosomen in ihrer Größe viel ausgeglichener sind, aber nicht die Größe der größten Chromosomen aus den höheren Sätzen erreichen. Möglicherweise steht das mit der Zellengröße im Zusammenhang. Die größten bisher bei den Tagfaltern bekannten Chromosomen finden wir bei der Satyrine *Melanargia galathea* (Abb. 12, S. 187), die haploid 24 Chromosomen hat, während die 14 Chromosomen der *Erebia oëme* entschieden kleiner sind; hier ist aber auch die Zelle wesentlich kleiner als bei *Melanargia*. Die Spermatozyten-Chromosomen von *Erebia medusa* ( $n = 11$ ) sind mir nicht bekannt, aber sowohl nach den 22 großen Chromosomen einer 4zelligen Spermatoconiencyste wie auch den Oocytenchromosomen (FEDERLEY) dürften sie sehr groß und untereinander ziemlich gleichmäßig sein.

FEDERLEY vertritt die Ansicht, daß die großen Chromosomen durch die Fusion von 2 oder mehr Chromosomen entstanden sind und betrachtet sie demzufolge als Sammelchromosomen. So verlockend diese Annahme auf den ersten Blick auch sein mag, so ist es doch fraglich, ob sie ganz richtig ist, da sie mit unseren heutigen Vorstellungen von dem feineren

Bau der Chromosomen nicht leicht vereinbar ist. Es ist nämlich nicht gleichgültig, ob ein großes Chromosom 2 ganze Chromosomen darstellt oder nur Teile mehrerer Chromosomen enthält, wie es nach dem heutigen Stand der Chromosomenforschung wahrscheinlicher ist. Die somatischen Mitosen aus dem Raupengehirn von *Erebia oëme* lassen klar 28 Chromosomen erkennen, also die diploide Zahl der der Spermatocyten ( $n = 14$ ). Ebenso konnten in den Blastodermzellen von *Erebia melas* 42 Chromosomen gezählt werden, was auch genau die diploide Zahl gegenüber der der Reifeteilungen dieser Art darstellt ( $n = 21$ ). Das gleiche ist auch bei *Pieris brassicae* der Fall. Die Reifeteilungen stellen somit nicht vorübergehende Sammelchromosomen dar, sondern gewöhnliche normale Chromosomen, die keine Zusammensetzung aus 2 oder mehr Chromosomen erkennen lassen. Sofern sich meine vorläufigen Befunde an den Spindelfasern durch genauere Methodik als richtig erweisen sollten, wonach an der Stelle jedes großen Chromosoms nur eine Spindelfaser zu erkennen ist, dürfte also wohl auch nur ein Spindelansatz vorhanden sein. Bei richtigen Sammelchromosomen bleiben aber alle Spindelansätze funktionsfähig erhalten. Und so wie es bei diesen Arten ist, betrachte ich auch alle übrigen großen Chromosomen der niedrigzahligen Arten; sie sind ebenso rund oder regelmäßig oval wie die kleineren Chromosomen der normalzahligen Arten. Chromosomen, bei denen die Fusion wirklich nachweisbar ist, sehen ganz anders aus, wie dies die zahlreichen Abbildungen in der Arbeit FEDERLEYS klar zur Schau bringen. Solche fusionierten Chromosomen kommen fast ausschließlich in solchen Oocyten vor, die ein Chromosom weniger haben als die Spermatocyten derselben Art. Die Doppeltheit solcher Chromosomen ist an ihrer Gestalt ohne weiteres erkennbar; sie sind langgestreckt, zuweilen auch gebogen, mit einer Einschnürung, die sofort die Zusammensetzung aus 2 Chromosomen erkennen läßt. Wie die eigentlichen Sammelchromosomen aussehen, erkennen wir auch bei der Pieridenart *Leptidea sinapis* L.

Die außergewöhnliche Unbeständigkeit der Chromosomenzahl dieser Art fand schon Erwähnung. Soweit bisher bekannt, variiert sie zwischen 26 und 41 Chromosomen, womit jede bisher bekannte, sicher festgestellte Zahleninkonstanz der Chromosomen überholt zu sein scheint<sup>1</sup>. Die Variabilität dürfte aber nicht überall gleich groß sein; die stabilisierteste Rasse scheint im Norden, in Finnland, vorzukommen, wo zugleich auch die niedrigste Chromosomenzahl angetroffen wurde: 26 und 27, ausnahmsweise auch 28. Die größte Chromosomenzahl dieser Art wurde bei einem Tier aus Fontainebleau in Frankreich festgestellt (41). Alle

<sup>1</sup> Die bekannte große Variabilität der Chromosomenzahlen der Vögel ist nach den genauen Untersuchungen von SUZUKI (1930), JENTSCH (1935) und besonders OGUMA (1937) nur auf unzulängliche Färbung zurückgeführt worden, derzufolge die für die Vögel charakteristischen winzigen runden Chromosomen nicht immer in gleicher Zahl zum Vorschein kommen.

übrigen Zahlen sind auf dem kleinen Gebiet in der Umgebung von Zagreb gefunden worden.

Wie bei den oben besprochenen Karyotypen mit niedrigen Chromosomenzahlen treten auch bei *L. sinapis* in Kernen mit niedrigerer Chromosomenzahl einige große Chromosomen auf. Welch ein Unterschied aber zwischen diesen und den großen Chromosomen karyotypisch beständiger Arten! Die großen Chromosomen von *sinapis* (Abb. 4) sind durchwegs langgestreckt, entweder gerade oder gebogen, wie auch v-förmig geknickt. Ihre Zusammensetzung aus mehreren Chromosomen ergibt sich ohne weiteres aus den Anschwellungen und Einschnürungen. Die Breite

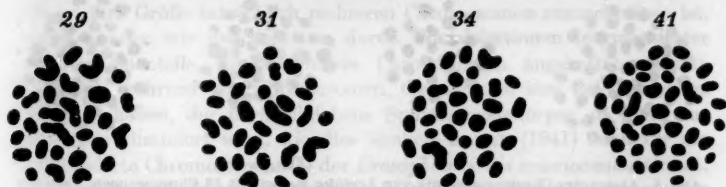


Abb. 4. Einige Chromosomensätze von *Leptidea sinapis* mit mehreren verbundenen Chromosomen. 29, 31 und 34 aus Podsed, 41 aus Fontainebleau. I. Reifeteilung.

dieser langen Chromosomen ist dagegen dieselbe wie die der übrigen kleinen ovalen Chromosomen, während die großen Chromosomen von *Erebia*, *Pieris brassicae* u. a. nicht nur in die Länge, sondern auch in die Breite vergrößert sind. An Schnitten, an denen die mehr oder weniger horizontal gelegenen Äquatorialplatten unmittelbar an der Grenze einer der beiden Schnittflächen liegen, treten in dem nächsten Schnitt die Querschnitte der Spindelfasern deutlich hervor; es ließ sich feststellen, daß an der Stelle eines langen Chromosoms mehrere, ja bis 4 Spindelfasern liegen, während bei den kleinen runden Chromosomen nur eine Spindelfaser sichtbar ist. Demnach sind nur diese langen und gebogenen Chromosomen als Sammelchromosomen zu deuten, während die großen Chromosomen der niedrigzahligen aber karyotypisch beständigen Arten wohl nicht als Sammelchromosomen im echten Sinne aufzufassen sind.

Übereinstimmend mit den Befunden SEILERS an *Solenobia pineti* ist auch bei *L. sinapis* stets dieselbe Zahl und Form der Chromosomen in beiden Reifeteilungen ein und desselben Individuums gefunden worden. Allerdings können in der 2. Reifeteilung die Glieder eines Sammelchromosoms je nach der Stärke der Färbung manchmal so locker sein, daß es strittig ist, ob man sie noch als ein Chromosom oder als mehrere Chromosomen aufzufassen hat, aber stets wird man erkennen, daß sich diese Chromosomen berühren, was bei den anderen Chromosomen in klaren Platten nicht der Fall ist. Auch in den Blastodermmitosen kommen lange und gebogene Chromosomen vor; die genaue Chromosomenzahl

konnte jedoch bisher in keinem Falle einwandfrei festgestellt werden, so daß es noch fraglich ist, ob alle Zellen eines Eies oder alle Eier eines Geleges die gleiche Chromosomenzahl haben.

Es sind aber bei *L. sinapis* nicht nur die großen Chromosomen, die die Gestalt der Sammelchromosomen haben; es gibt auch kleinere Chromosomen, die deutliche Einschnürungen und Verdickungen zeigen.

Fusionierte Chromosomen, wie sie bei *L. sinapis* vorkommen, sind mir im männlichen Geschlecht nur noch bei *Leptidea morsei* bekannt geworden. Obwohl diese Art mit *sinapis* nächstverwandt und ihr äußerst

53

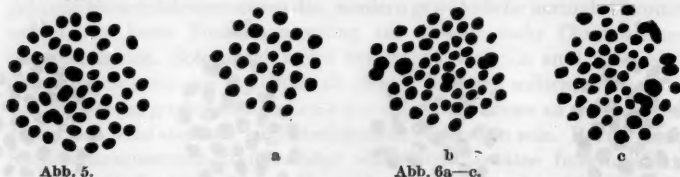


Abb. 5. Aberranter Chromosomensatz von *Leptidea morsei* mit 53 Chromosomen, darunter ein durch Verbindung von 2 Chromosomen entstandenes herzförmiges Chromosom.

Abb. 6a—c. Normale Spermatocyte (a) und 2 Riesenspermatocyten 1. Ordnung von *Smerinthus ocellata* (b, c) mit mehreren verbundenen Chromosomen (nach BELIAJEFF).

ähnlich ist, unterscheidet sie sich bezüglich der Chromosomenzahl und deren Konstanz von *sinapis* sehr beträchtlich. *L. morsei* hat 54 ovale, fast gleich große Chromosomen, und von 10 untersuchten Individuen sind bei 9 die Chromosomen konstant in dieser Zahl vorhanden. Nur bei einem Stück trat die Fusion zweier Chromosomen auf (Abb. 5), so daß jede Platte 53 Chromosomen zählt, darunter ein besonders gestaltetes, häufig in Herzform, das sich unter den anderen hervorhebt.

Es liegt auf der Hand, daß der eigenartige Chromosomensatz von *L. sinapis* durch Vereinigung mehrerer Chromosomen eines einst verdoppelten Satzes vom Typus der *L. morsei* entstanden sein dürfte. Über den Mechanismus dieser Chromosomenverbindungen wissen wir noch nichts Positives. In Anbetracht der Möglichkeit der Polyploidie, worüber noch im nächsten Kapitel gesprochen wird, könnte es sich um sekundäre Paarung handeln. Ein Vergleich der *sinapis*-Chromosomen mit denen der tetraploiden Riesenspermatocyten von *Smerinthus ocellata* (BELIAJEFF) ist in dieser Hinsicht sehr überzeugend (Abb. 6). Auch die neuerdings angestellten Untersuchungen über die Oogenese der *Leptidea*-Arten stehen mit der Annahme der Polyploidie im Einklang. In den noch nicht ganz reifen Eiern von *L. sinapis* kommen ausgesprochen schöne Vierergruppen vor, die jedoch keine Tetraden sind, da neben ihnen auch gewöhnliche bivalente Chromosomen erscheinen. Die Annahme einer Paarung von 4 homologen Chromosomen ist die einfachste Deutung dieser Gebilde. Bei *L. morsei* konnten dagegen keine solche Vierergruppen gefunden

werden, sondern nur 54 einfache bivalente Paarungen, wie sie ja für die Schmetterlingstetraden charakteristisch sind. Sie sind z. B. bei *Pieris brassicae* und *Erebia oëme* nachgewiesen, während Vierergruppen, die in Anbetracht der großen Chromosomen und ihrer geringen Zahl bei diesen Arten zu erwarten wären, in keiner untersuchten Platte gefunden werden konnten.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die großen Chromosomen der niedrigzahligen Arten (*Pieris brassicae*, *Argynnis ino*, *Erebia medusa* usw.) normale Chromosomen sind, deren Entstehung durch Fusion mehrerer Chromosomen nur aus ihrer Größe und geringen Zahl zu schließen ist. Wenn ihre Größe tatsächlich mehreren Chromosomen zuzuschreiben ist, dann können wir uns dies nur durch Translokationen fragmentierter Chromosomenteile, die an andere Chromosomen angeheftet werden, erklären, während von Chromosomen, die dadurch ihre Schenkel ganz verloren haben, der übriggebliebene Spindelansatzkörper als inert aus der Zelle eliminiert wird, wie dies ähnlich BAUER (1941) auch für die verminderte Chromosomenzahl der *Drosophila virilis americana* annimmt. In solchem Falle können wir aber nicht mehr von Sammelchromosomen sprechen. Zugleich folgt aus dieser Erklärung die unerwartete Wandlung in der bisherigen Anschauung von der Änderung der Chromosomenzahlen bei den Schmetterlingen; als primäre Ursache der Entstehung großer Chromosomen (nicht Sammelchromosomen) kann nicht die Fusion, sondern die Fragmentation gelten, so daß also die Fragmentation in ihren Folgen nicht zur Vermehrung, sondern zur Herabsetzung der Chromosomenzahl führt.

## VI. Vervielfachte Chromosomenzahlen und deren Entstehung.

Das interessanteste Kapitel unserer Untersuchungen bieten diejenigen Sätze, deren hohe Chromosomenzahlen eine entweder genaue oder fast genaue Vervielfachung einzelner Gattungsgrundzahlen darstellen. Solche vervielfachten Sätze sind bisher aus 3 von den 5 großen Tagfalterfamilien bekannt: bei 2 Pieriden, 2 Lycaeniden und 1 Satyrine.

	Spezies	Chromosomenzahl	Gattungsgrundzahl
1	<i>Leptidea morsei</i> FENT. . . . .	53—54	28?
2	<i>Leptidea duponcheli</i> STGR. . . . .	104	28?
3	<i>Polyommatus bellargus</i> ROTT. . . . .	45	24
4	<i>Polyommatus coridon</i> PODA . . . . .	90	24
5	<i>Erebia ottomana</i> H.-S. . . . .	40	20

Die Zahl 90 von *Polyommatus coridon* stellt genau die verdoppelte Zahl 45 von *P. bellargus* dar; letztere wiederum ist fast genau die Verdoppelung von 23, die neben der Grundzahl 24 in der Familie der *Lycaeniden* häufig ist. Weiterhin steht die Zahl 104 von *L. duponcheli* der

Verdoppelung der Zahl 54 von *L. morsei* sehr nahe und die letzte wiederum der Verdoppelung der wahrscheinlichen Grundzahl 28 dieser Gattung. Genau die doppelte Chromosomenzahl hat auch *Erebia ottomana*, da sich die Chromosomenzahlen der übrigen Ereben zwischen 19 und 21 bewegen und somit als Grundzahl 20 angenommen werden darf.

Solche polyploid erscheinenden Chromosomenzahlen sind bisher bei Lepidopteren nicht bekannt gewesen, bilden aber auch sonst im Tierreiche eine Ausnahme. Unter den Nachtfaltern sind zwar einige Arten mit hoher Chromosomenzahl bekannt, die aber nur vereinzelt bei verschiedenen Familien vorkamen; außerdem sind auch die Grundzahlen der Gattungen, zu denen diese Arten gehören, unbekannt geblieben, so daß die Natur dieser hohen Sätze nicht richtig erkannt war. Es sind dies folgende Arten:

	Spezies	Chromosomenzahl	Gattungsgrundzahl	Autor
1	<i>Cerura bifida</i> HBN. . . .	49	29	FEDERLEY, 1928
2	<i>Dasychira pudibunda</i> L. . .	87	?	BELIAJEFF, 1930
3	<i>Lycia zonaria</i> SCHIFF. . . .	56	? (28?)	HARRISON-DONCASTER, 1914
4	<i>Lycia pomonaria</i> HBN. . . .	51	?	MALAN, 1918

Obwohl die Grundzahl der Gattung *Lycia* nicht bekannt ist, ist doch *L. zonaria* als zahlenmäßig tetraploid zu betrachten, da die Grundzahl

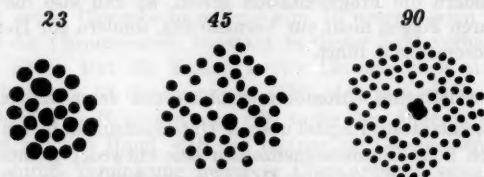


Abb. 7. Ein normaler Chromosomensatz und 2 vervielfachte Sätze der *Lyceniden*: *Polyommatus icarus*  $n = 23$ , *P. bellargus*  $n = 45$  und *P. coridon*  $n = 90$ . I. Reifeteilung.

leicht 28 sein könnte; denn eine dritte *Lycia*-Art (*hirtaria*) weist 14 Chromosomen auf, welche Zahl etwa die Hälfte der Gattungsgrundzahl sein könnte. Jedenfalls sind uns bisher unter den Nachtfaltern keine so genauen ganzen Vervielfachungen der Chromosomenzahlen bekannt, wie bei den Tagfaltern.

Die geringen Ungenauigkeiten in der Verdoppelung oder Vervielfachung der Chromosomenzahlen der Tagfalter finden ihre Erklärung, wenn man nicht allein die Zahlen, sondern auch die Größe der Chromosomen berücksichtigt. In jedem vervielfachten Chromosomensatz behält nämlich wenigstens je ein Chromosom seine ursprüngliche Größe aus dem Grundtypus, so daß es in den verdoppelten Sätzen doppelt so groß, in den 4fachen ungefähr 4mal so groß wie die übrigen Chromosomen ist.



So müßten bei *Polyommatus bellargus* durch Verdoppelung der Lycænidengrundzahl 23 (Abb. 7) 46 kleinere Chromosomen entstehen, aber bei *bellargus* ist ein Chromosom doppelt so groß wie die anderen, wonach sich die Zahl 45 ergibt. *Polyommatus coridon* hat zwar genau die doppelte Chromosomenzahl der *P. bellargus* ( $2 \times 45 = 90$ ), was aber nicht ganz genau mit der Halbierung aller Chromosomen übereinstimmt, da ein Chromosom seine ursprüngliche Größe weiter behält, wodurch sich 88 Viertelchromosomen + 1 ganzes Chromosom ergeben würden, also 89 und nicht 90 Chromosomen vorkommen müßten. Da das große, gewöhnlich in der Mitte der Äquatorialplatte liegende Chromosom wenigstens 4mal so groß ist wie die kleinen Chromosomen, also  $88 + 4$  Viertelchromosomen sein sollten, tatsächlich aber  $89 + 4$  Viertelchromosomen bestehen, so ergäbe sich noch ein überzähliges kleines Chromosom.

Ähnlich verhält es sich mit *Erebia ottomana*, da auch bei dieser Art die Chromosomenzahl 40 ohne weiteres von der mittleren Chromosomenzahl der Gattung ( $n = 20$ ) abgeleitet werden könnte, wenn ein großes

21

40

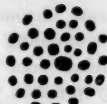
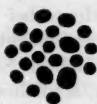


Abb. 8. Ein gewöhnlicher Chromosomensatz der Gattung *Erebia* (*E. melas*,  $n = 21$ ) und der verdoppelte Satz von *E. ottomana*. I. Reifeteilung.

29

54

54

104

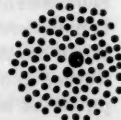
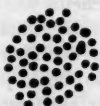
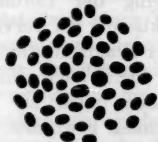


Abb. 9. Ein Chromosomensatz von *Leptidea sinapis* ( $n = 29$ ) und vervielfachte Sätze von *L. morsei* ( $n = 54$ , I. und II. Reifeteilung) und *L. duponcheli* ( $n = 104$ ). I. Reifeteilung.

Chromosom die Genauigkeit nicht stören würde (Abb. 8); dadurch, daß ein Chromosom seine ursprüngliche Größe behält, läßt sich nämlich die Zahl 40 weder von 20 noch von 19 und 21 direkt ableiten.

Bei *Leptidea morsei* müßte sich durch Verdoppelung der Zahl 28, die die Grundzahl der Gattung sein könnte, 56 ergeben, aber 2 Chromosomen bleiben doppelt so groß, so daß sich daraus die Zahl 54 ergibt (Abb. 9). Durch weitere Verdoppelung der Zahl 54 würde sich 108 ergeben, und zwar 104 Viertelchromosomen und 4 Halbchromosomen; in der Tat sind aber bei *L. duponcheli* nur 104 Chromosomen vorhanden, davon 102 Viertelchromosomen, 1 Halbchromosom und 1 großes ganzes Chromosom. Da der Durchmesser dieses großen Chromosoms mindestens 2mal, sein Volumen demnach 8mal so groß ist wie das Volumen der Viertelchromosomen, so sind in dem großen Chromosom gerade noch die 2 fehlenden Viertelchromosomen und 3 Halbchromosomen enthalten.

Damit wäre die ganze Chromosomenmasse der *L. morsei* in der *L. duponcheli* enthalten, eine Genauigkeit, die in Anbetracht der spezifischen Verschiedenheit beider Arten allerdings nicht zu erwarten wäre.

Über die Möglichkeit, daß die einzelnen großen Chromosomen vielleicht Heterochromosomen sein könnten, kann nichts Positives gesagt werden, da ihr Verhalten in der Eireifung noch nicht untersucht wurde.

*Entstehungsweise vervielfachter Chromosomenzahlen.* Die interessanteste Chromosomenfrage bei den Schmetterlingen ist jedenfalls die der Entstehung der vervielfachten Sätze. Soweit über die Entstehung hoher oder vervielfachter Sätze bei Schmetterlingen Annahmen ausgesprochen wurden, sind diese Sätze ausschließlich der Durchbrechung der Chromosomen (Fragmentation) zugeschrieben worden (HARRISON-DONCASTER, 1914; MALAN, 1918; CRETSCHMAR, 1928; BELIAJEFF, 1930). FEDERLEY berührt in seiner letzten Arbeit (1938) diese Frage nicht direkt, da ihm unter den finnländischen Tagfaltern solche Fälle nicht vorgekommen sind. Eine solche Erklärung ist aber heute nicht mehr aufrecht zu erhalten, wie überhaupt die Anschauung von der Änderung der Chromosomenzahlen durch Fragmentation aufgegeben werden muß, da sie schwerlich mit unserem heutigen Wissen von den feineren Bau der Chromosomen und dem Verhalten ihrer Bruchteile in der Mitose vereinbar ist. Aber nicht nur von diesem Standpunkt aus, sondern auch auf Grund statistischer Betrachtung der Chromosomenzahlen der Schmetterlinge erscheint uns die Erklärung der vervielfachten Sätze der Lepidopteren durch die Annahme der Fragmentation nicht befriedigend. Wenn die Annahme der Polyploidie zuerst auch einfach zurückgewiesen wurde, gewinnt sie doch jetzt immer mehr an Wahrscheinlichkeit; ja, sie ist sogar zur einzigen Möglichkeit geworden. Darauf sei im folgenden nur in aller Kürze eingegangen.

a) *Die Neubildung der Spindelfaseransatzstelle.* In erster Linie steht die Frage der Neubildung der Spindelfaseransatzstelle in einem Chromosomfragment. Nach der Fragmentationshypothese müßten beide Bruchteile eines Chromosoms normal weiter und selbständig in der Mitose teilnehmen. Dies hat zur Voraussetzung, daß bei demjenigen Fragment, das ohne Ansatzstelle bleibt, diese wieder neugebildet wird, da ein derartiges insertionsloses Fragment sonst nicht auf die Dauer in der Mitose erhalten werden kann. Die Untersuchungen an *Drosophila*, wie auch viele andere, zeigen aber, daß Chromosomenfragmente nie selbständig an der Mitose teilnehmen, sondern stets entweder demselben oder einem anderen Chromosom angeheftet oder aber aus der Zellteilung eliminiert werden. Übereinstimmend mit dieser Erkenntnis und unserem Wissen von dem feineren Bau der Chromosomen ergibt sich, daß die Insertionsstelle nicht von neuem gebildet wird, da sie nicht nur eine bestimmte unveränderliche Lage im Chromosom, sondern auch einen bestimmten Bau hat.

In diesem Lichte betrachtet erscheint die Vorstellung von der Fragmentation als Entstehungsform der vervielfachten Sätze wenig wahrscheinlich, denn wenn schon die Neubildung der Ansatzstelle eines einzigen Chromosoms unwahrscheinlich ist, um wieviel weniger wahrscheinlich wird sie erst für einen ganzen Satz von etwa 40, 50 oder 60 Chromosomen. Die Neubildung der Ansatzstelle spräche somit gegen die Fragmentation und folgerichtig für Polyploidie.

Ein Einwand gegen die Polyploidie soll darin liegen, daß sie im Tierreiche nur eine Ausnahme ist. Wenn dies auch stimmen mag und die Polyploidie, wie alle Befunde übereinstimmend zeigen, fast ausschließlich an parthogenetische Formen gebunden ist, so ist sie andererseits doch sicher bewiesen. Ganz anders steht es mit der Fragmentation, von der Totalfragmentation gar nicht zu reden. Fragmentation aller Chromosomen eines Satzes ist nirgends direkt beobachtet worden. Der Zerfall des Sammelchromosoms einiger Ascariden ist keine echte Fragmentation, da in diesem Falle alle Einzelchromosomen mit ihren Kinetochoren unverändert bleiben.

Die Schwierigkeit der Entscheidung, ob in den gegebenen Fällen vervielfachter Chromosomensätze Fragmentation oder Polyploidie vorliegt, beruht in der weitgehenden Gleichmäßigkeit von Form und Größe der Schmetterlingschromosomen, die keinerlei leicht erkennbare Anhaltspunkte für die Feststellung einer Verdoppelung des Satzes oder einer Zerteilung der Chromosomen liefern. Außerdem handelt es sich hier nicht um Rassen oder Varietäten einer Art, sondern um spezifisch verschiedene Formen, um Arten, die im Laufe ihrer selbständigen Entwicklung manche Änderungen erfahren haben, die den Vergleich trüben.

b) *Die Beziehung zwischen der Zahl und Größe der Chromosomen in normalen und vervielfachten Sätzen.* Eine jedenfalls auffallende Erscheinung der vervielfachten Sätze ist die Tatsache, daß in den meisten Fällen einer Vervielfachung der Zahl der Chromosomen die Chromosomen selbst verkleinert werden, während die Zellgröße unverändert bleibt (Abb. 7, 8, 9). Ob die Chromosomen dabei genau um die Hälfte bzw. ein Viertel kleiner werden, soll infolge der Kleinheit des Objektes, dessen Umrisse nicht die ausreichende Schärfe haben, vorläufig dahingestellt bleiben. Bei der spezifischen Verschiedenheit dieser Formen ist übrigens eine solche Genauigkeit ohne dies nicht zu erwarten. Dies bezeugt z. B. am besten die Art *Leptidea duponcheli*, deren Spermatoocyten mehr als um die Hälfte kleiner als die der *L. morsei* sind (Abb. 9); dennoch zeigt *L. duponcheli* 104, *L. morsei* nur 54 Chromosomen, obwohl die beiden Arten ganz nahe miteinander verwandt sind.

Die Verkleinerung der Chromosomen in den vervielfachten Sätzen wurde besonders zugunsten der Fragmentationshypothese ins Feld geführt (CRETZSCHMAR, 1928; BELIAJEFF, 1930), da, wie bekannt, polyploide Sätze neben unveränderter Chromosomengröße eine entsprechende Zell-

vergrößerung zeigen. In der Tat besagt aber auch dieser Umstand noch nichts, da Zellvergrößerung nur bei experimentell hervorgerufener Polyploidie auftritt, während in der Natur vorkommende polyploide Pflanzenformen keine solche Zellvergrößerung zeigen, was also mit unserem Falle übereinstimmen würde. Außerdem fand v. WETTSTEIN neuerdings (1937), daß bei seinen experimentell erzeugten polyploiden Moosformen die anfängliche Zellvergrößerung in den späteren Generationen zurückging, was offensichtlich auf einen sekundären Vorgang hinweist. Auch der erwähnte Fall von *Leptidea duponcheli* beweist, daß die Zellen samt den Chromosomen verkleinert werden können und daß somit Verkleinerung der Chromosomen auch auf anderem Wege zustande kommt als nur durch Durchbrechung. Schließlich haben nicht alle vervielfachten Sätze der Schmetterlinge verkleinerte Chromosomen und Zellen (Spermatocyten), sondern es finden sich auch solche, deren Zellen und Chromosomen bedeutend größer sind als diejenigen ihrer Verwandten mit normaler Zahl (*Leptidea sinapis* und *L. morsei*, *Dasychira pudibunda*). Alle diese Erscheinungen können also gut mit Polyploidie vereinbar sein.

c) *Das Verhalten der Chromosomen verschiedenzahliger Sätze in der Kreuzung.* Zugunsten der Theorie der Fragmentation wird auch der von MALAN (1918) erbrachte Nachweis der Chromosomenpaarung im Bastard von *Lycia hirtaria* (14 Chromosomen)  $\times$  *pomonaria* (51 Chromosomen) angeführt (CRETSCHMAR, 1928). Insofern bei diesem Bastard eine Paarung zwischen den mütterlichen und väterlichen Chromosomen überhaupt stattfand, soll, nach den zahlenmäßigen Verhältnissen der Chromosomen zu schließen, eine teilweise Konjugation zwischen je einem großen *hirtaria*-Chromosom und mehr als je einem kleinen *pomonaria*-Chromosom eintreten. Diese Tatsache enthält aber keinen so überzeugenden Beweis für die Fragmentationshypothese, wie man früher annahm, da wir uns die Chromosomen des *hirtaria*-Satzes nicht als primäre Einzelchromosomen, sondern als Chromosomen, an welche Teile anderer Chromosomen angeheftet sind, vorzustellen haben. Nur diese Auffassung macht nämlich die beträchtliche Größe der *hirtaria*-Chromosomen neben ihrer geringen Zahl (14), die wahrscheinlich die halbe Grundzahl der Gattung ist (28), verständlich. Und wenn nun die Chromosomen des *hirtaria*-Satzes eben aus mehreren Chromosomen entstanden sind, so wird auch verständlich, daß wenigstens je 2 *pomonaria*-Chromosomen mit je einem *hirtaria*-Chromosom kopulieren müssen. Da nicht festgestellt ist, ob mehr als 2 *pomonaria*- mit je einem *hirtaria*-Chromosom kopulieren, so bezeugt der Fall *L. pomonaria*  $\times$  *L. hirtaria* vorläufig noch nichts, was hinsichtlich der Fragmentation besonders ins Gewicht fallen würde. Eine ganz ähnliche Anschauung vertritt auch FEDERLEY (1938) für den Bastard *L. zonaria*  $\times$  *hirtaria*.

d) *Isoliertheit vervielfachter Sätze in der Chromosomen-Zahlenreihe.* Eine weitere Erscheinung, die gegen die Annahme der Fragmentation

spricht, ist das isolierte Vorkommen der vervielfachten Sätze in der Reihe der Chromosomenzahlen der Lepidopteren<sup>1</sup>. Wenn Chromosomenfragmentation als Erklärung der vervielfachten Chromosomenzahlen vorausgesetzt wird, so würde dieser Hiatus bedeuten, daß das eine Mal nur ganz wenige Chromosomen zur Fragmentation gelangen, ein anderes Mal aber sämtliche oder fast sämtliche, während es Übergänge zwischen diesen zwei Möglichkeiten nicht gibt. Wenn aber die Totalfragmentation derselbe Vorgang wie die Einzelfragmentation ist, dann müßten auch alle möglichen Übergänge zwischen beiden vorkommen. Da dies nicht der Fall ist, sondern zwischen normalen und vervielfachten Sätzen eine breite Lücke besteht, können wir daraus auf die verschiedene Natur der beiden Vorgänge schließen. Mit der Annahme der Polyploidie ist dagegen die Unterbrechung in der Variationsreihe leicht vereinbar, da ja Zahlensprünge in der Natur der Polyploidie liegen.

e) *Isometrie der Chromosomen in den vervielfachten Sätzen.* Für die Frage, ob Fragmentation oder Polyploidie vorliegt, gewinnt auch Isometrie der Chromosomen in den vervielfachten Sätzen gewisse Bedeutung. Es ist nämlich auffällig, daß die Chromosomen verdoppelter und vervierfachter Karyotypen fast durchwegs die gleiche Größe haben, von je einem großen Chromosomen abgesehen. Im Falle der Fragmentation in solchen Karyotypen würde diese Übereinstimmung bedeuten, daß jedes Chromosom in seiner Mitte gebrochen wird. Dies widerspricht aber den Erfahrungen an anderen Tieren und an Pflanzen, da in Fällen sicher nachgewiesener Fragmentation von den Chromosomen meistens nur kleinere Teile abgebrochen werden (*Drosophila*; NAWASCHIN, TRANKOWSKY bei *Crepis*; McCLUNG bei *Hesperotettix*). Andererseits sehen wir bei den Lepidopteren, daß bedeutende Größenunterschiede der Chromosomen hauptsächlich in Karyotypen von unternormaler Chromosomenzahl auftreten, die also sehr wahrscheinlich durch Anheftung abgebrochener Chromosomenteile an andere Chromosomen entstanden sein dürften. Diese Ungleichheit der Chromosomengröße bei unternormalen Chromosomenzahlen ließe eine entsprechende Ungleichheit auch bei den hohen Chromosomenzahlen erwarten, was sich jedoch gar nicht oder im weit geringerem Maße als zu erwarten bestätigt. Die Isometrie der Chromosomen der vervielfachten Sätze würde demnach besser der Polyploidie entsprechen.

Auf die Frage, welche Form der Polyploidie für die Entstehung der vervielfachten Sätze der Schmetterlinge in Betracht käme, soll hier

<sup>1</sup> Es wurde schon erwähnt, daß wir uns die verschiedenen Zahlen der *Leptidea sinapis* nicht als Fragmentationsergebnis, sondern als Folge von Verschmelzungen innerhalb einer polyploiden Garnitur vorstellen. Durch den Ausfall der Chromosomenzahlen der *L. sinapis* aus der Reihe der Chromosomenzahlen der Lepidopteren wird die Lücke zwischen der Grundzahl und den tetraploiden Zahlen noch auffälliger.

nicht eingegangen werden, da dazu noch zu wenige sichere Anhaltspunkte vorliegen. Es sei nur erwähnt, daß das einzige, was alle Schmetterlingsarten mit vervielfachten Chromosomenzahlen auszeichnet, die unter ihnen bestehende allerengste Verwandtschaft ist. Die 3 *Leptidea*-Arten sind miteinander nächstverwandt, ebenso die beiden *Polyommatus*-Arten *bellargus* und *coridon*, während *Erebia ottomana* erst neuerdings von *E. tyndarus* als eigene Art abgesondert wurde. In Anbetracht dessen drängt sich der Gedanke auf, daß die polyploiden Chromosomenzahlen der Schmetterlinge vielleicht in der Artkreuzung ihre Ursache haben dürften. Um aber darüber einigermaßen sichere Aufschlüsse zu bekommen, muß zuerst das Verhalten der Chromosomen, besonders der einzelnen großen Chromosomen, bei der Eireifung untersucht werden, über das bei diesen Sätzen noch zu wenig bekannt ist.

### VII. Die Änderung der Chromosomenzahl und die Außenfaktoren.

Die Abweichungen der Chromosomenzahl von der Grundzahl lassen sich in kein Abhängigkeitsverhältnis zur Außenwelt bringen. Vielmehr sind sie entweder an systematische Gruppen gebunden, wie z. B. an gewisse Gattungen (*Pieris*, *Aporia*, *Leptidea*, *Erebia*, *Melanargia*) oder gar an ganze Familien (*Lycaenidae*), während sich manche Zahlen, besonders die halben Grundzahlen, unter verschiedensten Familien regellos zerstreut finden. Innerhalb einer Gattung oder Familie macht sich kein Einfluß von Außenfaktoren bemerkbar. So zeigen bei der Gattung *Erebia* die hochalpinen Arten *glacialis* und *gorge* keinen Unterschied in den Chromosomenzahlen gegenüber den Tieren der niederen Lagen (*aethiops*). Die alpinen *Polyommatus*-Arten *P. eros* ( $n = 23$ ) und *P. eumedon* ( $n = 24$ ) haben dieselbe Chromosomenzahl wie ihre Verwandten aus der Ebene (*P. icarus* 23, *P. astrarche* 24). Die niedrigere Temperatur und die sonstigen Faktoren des Hochgebirges würden demnach keine Rolle bei der Veränderung der Chromosomenzahl spielen. In der Gattung *Leptidea* treffen sogar die beiden entgegengesetzt gerichteten Prozesse zusammen: einerseits weitgehende Chromosomenverschmelzung bei *L. sinapis*, andererseits Vervielfachung der Chromosomenzahl bei *L. morsei* und *L. duponcheli*. Auf welche Weise die beiden Vorgänge in der gleichen Gattung durch Außeneinflüsse herbeigeführt sein könnten, läßt sich nicht erklären, da weder ein sichtbarer ökologischer noch physiologischer Anlaß dazu wahrnehmbar ist.

Auch FEDERLEY (1938) weist einen Einfluß der Außenfaktoren auf die Chromosomenzahl zurück, schließt aber die Möglichkeit eines beschleunigenden Einflusses einer größeren Chromosomenzahl auf die Entwicklung nicht aus. Unsere Fälle, in denen es sich nicht um eine kleine, sondern um eine 2—4fache Vergrößerung der Chromosomenzahl handelt, sprechen gerade für das Gegenteil. Von den an gleichen Biotopen vorkommenden *Polyommatus*-Arten hat *P. icarus* ( $n = 23$ ) bis



3 Generationen jährlich, *P. bellargus* ( $n = 45$ ) nur 2, während *P. coridon* ( $n = 90$ ) nur eine einzige Generation hervorbringt. *Erebia medusa* mit der kleinsten Chromosomenzahl 11 erscheint im kroatischen Velebitgebirge als erste von allen Erebien, etwas später erscheint *E. oëme* ( $n = 14$ ), während *E. ottomana* mit 40 Chromosomen zu den weit später erscheinenden Arten zu rechnen ist. Auch bei den *Leptidea*-Arten ist die zuerst erscheinende und die meisten Generationen hervorbringende Art diejenige mit kleinster Chromosomenzahl (*L. sinapis*,  $n = 26-41$ ), während sich die beiden anderen Arten mit größerer Chromosomenzahl stets später im Jahre zeigen. Demnach fällt auch diese von FEDERLEY noch offen gelassene Möglichkeit der Beeinflussung der Entwicklungsgeschwindigkeit durch die Chromosomenzahl weg.

#### VIII. Der systematische Wert des Karyotypus bei den Schmetterlingen.

1. *Abweichende Grundzahlen.* An Hand der Chromosomenzahlen, die BELIAJEFF vorlagen, konnte dieser den einzig berechtigten Schluß

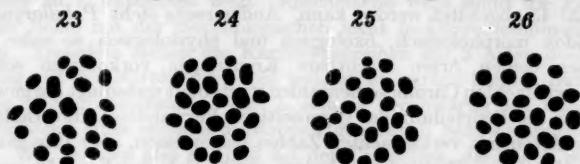


Abb. 10. Lycaeniden-Chromosomensätze. *Glaucopsyche cyllarus* ( $n = 23$ ), *Polyommatus hylas* ( $n = 24$ ), *P. thersites* ( $n = 25$ ) und *Cupido alcetas* ( $n = 26$ ). I. Reifeteilung.

ziehen, „daß bei den Lepidopteren die Zahlen 28—31 ein Merkmal der ganzen Ordnung sind; alle anderen Zahlen sind hingegen . . . nichts mehr als Artmerkmale“. Daten, die uns die Untersuchungen an Tagfaltern liefern, stehen zu dem ersten Satze nicht im Widerspruch, während der zweite Satz jedenfalls nicht in seinem vollem Umfange aufrecht erhalten werden kann, da FEDERLEYS sowie meine Befunde zeigen, daß andere Zahlen als 28—31 nicht nur Artmerkmale, sondern auch Gruppen-, Gattungs- und selbst Familiencharakter tragen können. Dies ist bei den Lycaeniden, bei einer Gruppe der Pieriden und einzelnen Gattungen der Satyriden der Fall.

Hinsichtlich der Abweichung des Karyotypus von der Grundzahl der Lepidopteren verhält sich am einheitlichsten die Familie der Lycaeniden. Bei allen 3 Hauptgruppen dieser artreichen Familie den Theclinen, Lycaeninen und Polyommatinen sind die Zahlen 23—26 gefunden worden (Abb. 10). Die häufigste Zahl, die somit schlechthin als die Grundzahl der Lycaeniden bezeichnet werden könnte, wäre 24, die seltenste 26, während nicht nur die allgemeine Grundzahl der Lepidopteren (31), sondern auch die 4 vorangehenden Zahlen 30, 29, 28 und 27 in dieser Familie bisher unbekannt bleiben.

Nur 2 Arten aus der Gattung *Polyommatus* weichen durch ihre Chromosomenzahlen von der Norm ab, da sie 45 bzw. 90 Chromosomen zählen. Diese Zahlen stören aber die vorhandene Einheitlichkeit der Familie gar nicht, da sie sich durch Verdoppelung bzw. Vervielfachung aus der Grundzahl 24 nächststehenden Zahl 23 zwanglos ableiten lassen. Die 2 Arten, die diese abweichenden Zahlen tragen, *P. bellargus* und *P. coridon*, nehmen in der Gattung *Polyommatus* keine besondere Stellung ein und beweisen somit, daß ganze Vervielfachung der Chromosomenzahlen ebenso wie die Polyploidie vom Standpunkt der Systematik aus keine größere Bedeutung hat als sie die geringen Zahlenabweichungen haben. Die Verdoppelung der Grundzahl 23 bei *P. bellargus* (45) und die weitere Verdoppelung dieser Zahl bei *P. coridon* (90) weist nur darauf hin, daß diese 2 Arten engstens miteinander verwandt sind, da es nicht wahrscheinlich ist, daß die Vervielfachung der Zahl 23 durch einen einmaligen Prozeß zustande kam. Tatsächlich zeigt *P. bellargus* morphologisch noch viele Beziehungen zur *icarus*-Gruppe, von deren Zahl 23 die Zahl 45 abgeleitet werden kann. Andererseits steht *P. bellargus* der *P. coridon* morphologisch, ökologisch und physiologisch so nahe, daß zwischen beiden Arten fruchtbare Kreuzungen vorkommen sollen<sup>1</sup>. Den vervielfachten Chromosomenzahlen wird somit unbedingt ein gewisser Wert für die Beurteilung der gegenseitigen Verwandtschaftsverhältnisse solcher Arten mit vervielfachten Zahlen beigemessen, aber ihre gemeinsame, allgemeine Position im System ergibt sich durch solche vervielfachten Zahlen nicht.

Einen bedeutenderen allgemeineren systematischen Wert als die ganzen vervielfachten Chromosomenzahlen haben scheinbar die geringen Zahlenabweichungen. Es ist nämlich auffällig, daß gerade bei 3 untersuchten Arten der ursprünglichsten Lycaeninengruppe den Glaucopsychnen die niedrigste Zahl der Lycaeniden gefunden worden ist (23); bei der höherstehenden *Polyommatus* ist diese Zahl bereits seltener, während sie bei den spezialisiertesten Everinen gänzlich fehlt und an ihrer Stelle die höchste Lycaenidenzahl 26 erscheint. Unwahrscheinlich ist bei dieser Übereinstimmung der Chromosomenzahlenreihe und der phyletischen Entwicklungsrichtung, daß gerade die ursprünglichste Gruppe die niedrigste, also von der Grundzahl der Lepidopteren entfernteste Zahl hätte, da eigentlich das Gegenteil zu erwarten wäre.

Von besonderem Interesse für die Systematik der Gattung *Polyommatus* wäre eine Untersuchung der Chromosomenzahlen der charakteristischen Artengruppe *coridon-damon-dolus-admetus*, da *P. coridon* augenscheinlich die niederste Entwicklungsstufe dieser Gruppe einnimmt (vgl. FORSTER, 1935) und doch die höchste bisher bekannte Chromosomenzahl aufweist.

<sup>1</sup> Über die von vielen Lepidopterologen als ein Kreuzungsprodukt zwischen *P. bellargus* und *P. coridon* aufgefaßte fragliche Form *P. pollonus* müßte durch eine Prüfung der Chromosomenverhältnisse jedenfalls Klarheit geschaffen werden können.

Eine weitere Bestätigung für die obige Behauptung, daß vielfache Zahlen keinen größeren systematischen Wert haben, liefern uns die Chromosomensätze der Gattung *Leptidea*. Mit Ausnahme der chinesischen Art *L. gigantea* stehen sich die übrigen 4 Arten so nahe, daß erst sorgfältige Untersuchungen Klarheit über die spezifischen Verhältnisse in dieser Gattung brachten (LORKOVIĆ, 1930/31). Trotz der großen morphologischen Übereinstimmung bestehen in den Karyotypen der 3 bisher untersuchten Arten doch gewaltige Unterschiede, da *L. sinapis* 28—41, *L. morsei* 54 und *L. duponcheli* 104 Chromosomen zählen. Im Zusammenhang mit dieser Gattung wäre darauf hinzuweisen, welche Vorsicht geboten ist, wenn aus den Chromosomenzahlen Schlüsse auf die phylogenetische Entwicklungsrichtung gezogen werden sollen; bei 3 *Leptidea*-Arten haben wir die aufsteigende Reihe: 28 *sinapis* — 45 *morsei* — 104 *duponcheli*; systematisch scheint aber *sinapis* in der Mitte zu stehen, da sie einerseits unbestrittene Beziehungen zu *L. morsei*, andererseits aber zu *L. duponcheli* zeigt. Anscheinend wäre somit die karyotypische Reihe mit der morphologischen nicht in Übereinstimmung zu bringen. Trotzdem stehen die Karyotypenreihen der 3 Arten doch im Einklang mit der Morphologie, weil festgestellt werden konnte, daß wir uns die Chromosomenzahlen der *L. sinapis* gegenwärtig als Chromosomenfusionen eines ehemals verdoppelt gewesenen Satzes vorzustellen haben. Wir nehmen also an, daß bei der Urleptidea, die der *L. morsei* nahe gestanden haben dürfte, eine Chromosomenverdoppelung entstanden ist, die bei *L. morsei* bestehen blieb, bei *L. duponcheli* eine weitere Verdoppelung erfuhr, während es bei *L. sinapis* durch Fusion einzelner Chromosomen nachher zu einem sekundären Rückgang der Chromosomenzahl kam, der noch in Weiterbildung begriffen ist. Nur eine solche Deutung des Tatbestandes kann die cytologischen Verhältnisse dieser Gruppe mit den übrigen systematischen Merkmalen in Einklang bringen.

Aus ähnlichen Gründen hat BELIAJEFF mit seinen Einwendungen gegen die von CRETSCHMAR (1928) aufgestellte Entwicklungs- und Karyotypenreihe in der Gattung *Orgyia* nicht unrecht. CRETSCHMAR ist der Meinung, daß die Reihe *Orgyia thyellina* 11, *O. antiqua* 14, *O. leucostigma* 28, *O. gonostigma* 30 und *O. ericae* 30 mit der phylogenetischen Entwicklungsrichtung der Flügelreduktion übereinstimmt. Da aber die Zahlen 11 und 14 unter den Lepidopteren verhältnismäßig selten sind, können sie nicht als Ausgangszahlen der phylogenetischen Entwicklung der Gattung *Orgyia* angesehen werden, um so weniger als die Grundzahlen 28—30 ohnehin in der Gattung vorhanden sind. Man müßte sonst annehmen, daß in der phyletischen Entwicklung der Gattung *Orgyia* ein reversibler Prozeß die Zahlen 28 und 30 wiederhergestellt hätte, wozu aber kein zwingender Anlaß — wie bei *Leptidea sinapis* — besteht. Näher wird man der Lösung kommen, wenn man den niedrigen Zahlen 11 und 14, analog den hohen, keine besondere Bedeutung zuschreibt,

da die halben Zahlen offenbar ebenso plötzlich entstanden sind wie die hochzahligen Karyotypen. So könnte man annehmen, daß sich die Verschmelzung der Chromosomen erst nach der erfolgten Differenzierung der Flügelentwicklung abspielte und somit die Chromosomenzahlen nur als ein systematisches Merkmal zu betrachten sind. Die Rückbildung der Flügel und die mit dieser verbundenen morphologischen und physiologischen Veränderungen hätten sich dementsprechend ohne Rücksicht auf die Chromosomenzahlen abgespielt.

Etwas anders erscheint der Fall der Spannergattung *Lycia* (*Biston*), bei der wir zur Zeit keine Art mit der Grundzahl um 30 herum kennen,

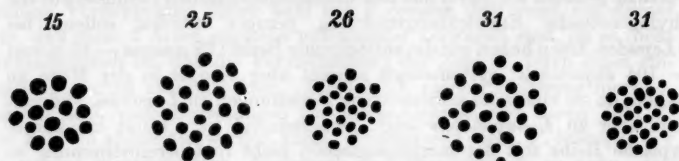


Abb. 11. Chromosomensätze einiger Pieriden: *Pieris brassicae* ( $n = 15$ ), *P. manni* ( $n = 25$ ), *P. daplidice* ( $n = 26$ ), *Euchloë cardamines* ( $n = 31$ ) und *Colias edusa* ( $n = 31$ ). Alles I. Reifeteilung.

da *Lycia hirtaria* 14 Chromosomen hat, während *pommonaria* 51 und *zonaria* 56 zählen. Als Grundzahl ließe sich sehr gut 28 aufstellen, da aus ihr die Zahl 14 durch Verschmelzung und 56 durch Verdoppelung entstanden sein könnte. Bei *Lycia* ist demnach die Zahlenänderung in zwei entgegengesetzten Richtungen gegangen, nicht aber fand, wie CRETSCHMAR annimmt, nur eine Zunahme der Chromosomenzahlen, von 14 ausgehend, statt, obwohl dies mit der phylogenetischen Entwicklungsrichtung der Arten gut vereinbar wäre.

Einen weiteren, vom Standpunkt der Systematik der Lepidopteren jedenfalls interessanten Fall stellen die Gattungen *Pieris* und *Aporia* dar (Abb. 11). Die 6 Arten unserer Fauna zeigen ebenso wie die Lycaeniden einen Karyotypus von unternormaler Zahl, nämlich 25 und 26 Chromosomen. Die Gattung ist morphologisch einheitlich, nur in der Zeichnungsentwicklung zeigt sie gewisse Verschiedenheiten, die Anlaß zur Weiterteilung des Genus gaben; so wurde *dapidice* von manchen Lepidopterologen als *Pontia* (*Synchloë*) von *Pieris* abgetrennt. Die andere Gruppe der Pieriden, zu der die Gattungen *Euchloë*, *Colias* und *Gonepteryx* gehören, zeigt wieder den für die Lepidopteren üblichen Karyotypus, in dem nur die Zahlen 30 und 31 vorkommen. Eine Art, *Pieris brassicae*, zeigt schließlich noch die reduzierte Zahl von 14 oder 15 Chromosomen. Es sind verschiedene systematische Gruppierungen der Pieriden versucht worden, ohne daß eine davon ganz befriedigt hätte. Die Karyotypen scheinen sehr gut mit den 2 Hauptgruppen übereinzustimmen, die sich vor allem aus der Puppenmorphologie ergeben.

Dabei scheinen die höherzahligen *Euchloë* und *Colias* primitiver zu sein als die geringzahligen *Pieris*. Die halbe Grundzahl der *Pieris brassicae* (15) dürfte aber in dieser Hinsicht nicht viel mehr zu bedeuten haben als die wenig unternormalen Zahlen der übrigen *Pieris*-Arten. Jedenfalls sehen wir auch bei den Pieriden dasselbe wie bei *Polyommatus*, daß nämlich verwandtschaftliche und karyotypische Verhältnisse auch bei den Lepidopteren Hand in Hand gehen können.

Eine besondere Stellung unter den Pieriden nimmt die Gattung *Leptidea* ein. Die eigenartigen Karyotypen dieser Gattung sind bereits beschrieben worden; es sei nur noch erwähnt, daß unter den Pieriden

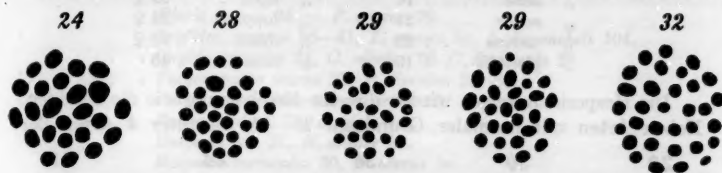


Abb. 12. Chromosomensätze einiger Satyrinen: *Melanargia galathea* ( $n = 24$ ), *Pararge maera* ( $n = 28$ ), *Satyrus hermine* ( $n = 29$ ), *Epinephele jurtina* ( $n = 29$ ) und *Coenonympha arcania* ( $n = 32$ ). Alles I. Reifeteilung.

auch die morphologischen und biologischen Besonderheiten dieser Gattung bzw. der Subfamilie *Dismorphini*, zu der *Leptidea* gehört, nicht weniger eigenartig als ihre Chromosomenzahlenverhältnisse sind.

Von den übrigen Tagfaltern sind von mir nur noch die Papilioniden ausführlicher untersucht worden. Diese Familie zeigt bezüglich des Karyotypus keine Auffälligkeit, es herrscht weitgehende karyotypische Übereinstimmung vor (29—31 Chromosomen), obwohl einzelne Gruppen bedeutende morphologische Unterschiede aufweisen.

Ähnlich den Papilioniden scheinen auch die Nymphalinen ein einheitlich aussehendes Bild der Karyotypen zu haben, da auch bei ihnen nur die Zahlen 29—31 vorkommen, mit der bisher einzigen Ausnahme von *Argynnis ino*, bei der FEDERLEY 12—13 Chromosomen fand.

Anders aber die Satyrinen. Dieser Tribus verdient hinsichtlich der Karyologie seiner Gattungen weit mehr Beachtung als ihm bisher gewidmet wurde. An zwei Stellen seiner Abhandlung hebt FEDERLEY die karyotypische Einheitlichkeit der Satyrinen hervor, da er außer bei *Erebia medusa* nur auf Arten von 28—32 Chromosomen stieß. Meine Befunde zeigen aber, daß das Gegenteil zutrifft; gerade in diesem Tribus kommen die größten Unterschiede in ziemlich kontinuierlichen Zahlenreihen vor. Die Chromosomenzahlen der bisher untersuchten Arten schwanken zwischen 11 und 32. Einige Zahlen scheinen dabei nur auf bestimmte Gattungen beschränkt zu sein. Die niedrigsten Zahlen 11 bis 22 sowie die höchste Zahl 40 kommen nur bei *Erebia* vor (Abb. 2), während 24 Chromosomen nur bei 2 Arten von *Melanargia* gefunden worden sind (Abb. 12). In dem ganzen Tribus kommen die Grundzahlen

der Lepidopteren 30 und 31 überhaupt nicht vor. Ganz besonderes Interesse erweckt die Gattung *Erebia*, die vergleichend cytologisch an die Seite der interessantesten Tagfaltergruppen, der Leptideen und *Polyommatus*-Arten, zu stellen ist. Vom systematischen Standpunkt aus betrachtet, fällt auf, daß die aufsteigende Reihe der Chromosomenzahlen in groben Zügen mit der systematischen Anordnung der *Erebia*-Arten übereinstimmt, wie dies die folgende Übersicht zur Darstellung bringt:

<i>Erebia epiphron</i> . . . 17	<i>Erebia pronoe</i> . . . 19
„ <i>pharte</i> . . . 19	„ <i>gorge</i> . . . 21
„ <i>medusa</i> . . . 11	„ <i>aethiops</i> . . . 21
„ <i>oëme</i> . . . 14	„ <i>ligea</i> . . . 29 ♀
„ <i>melas</i> . . . 21	„ <i>lappona</i> . . . 28 ♀
„ <i>nerine</i> . . . 22	„ <i>disa</i> . . . 29 ♀
„ <i>glacialis</i> . . . 19	„ <i>ottomana</i> . . . 40

Die Hesperiden zeigen wieder dieselbe Erscheinung wie die Pieriden. Neben Arten mit normaler Grundzahl 29—31, darunter 4 Arten der



Abb. 13. Chromosomensätze einiger Hesperiden: *Augiades sylvanus* ( $n = 29$ ), *Carcharodus alceae* ( $n = 30$ ), *Hesperia serratulae* ( $n = 30$ ), *H. alveus* ( $n = 24$ ) und *Thanaos lages* ( $n = 31$ ). I. Reifeteilung.

Gattung *Hesperia* mit 30 und 31 Chromosomen, finden sich bei *Hesperia alveus* nur 24 Chromosomen. Charakteristisch ist für die Gruppe, daß fast bei allen bisher untersuchten Arten ein besonders großes Chromosom vorkommt, das sofort erkennbar ist. Die Systematik der äußerst schwierigen Gattung *Hesperia*, die eine Anzahl morphologisch kaum unterscheidbarer Arten enthält, könnte vielleicht durch die Chromosomenuntersuchungen eine wertvolle Hilfe bekommen.

Wie aus dem Dargestellten hervorgeht, kann dem Karyotypus der Schmetterlinge in kleineren, enger umgrenzten Gruppen nicht jede systematische Bedeutung abgesprochen werden, da manche Artengruppen, Gattungen und selbst eine ganze Familie durch andere, von der allgemeinen Grundzahl der Lepidopteren abweichende Chromosomenzahlen charakterisiert sind.

2. *Chromosomenzahlen nahe verwandter Arten.* Wie in der Einleitung erwähnt, hatte sich diese Arbeit unter anderem auch die Ermittlung der Chromosomenzahlen ganz nahe verwandter Arten zur Aufgabe gemacht. Aus dem Vergleich der Chromosomenzahlen einiger solcher Arten geht hervor, daß nach dieser Richtung hin keine Gesetzmäßigkeit besteht, da in den betreffenden Chromosomensätzen ebenso Übereinstimmung



wie Verschiedenheit vorkommen. Gleiche Chromosomenzahlen sind bei folgenden 12 nächstverwandten Arten gefunden worden:

<i>Papilio podalirius</i> — <i>P. feisthameli</i> . . .	30
<i>Pieris rapae</i> — <i>P. manni</i> . . . . .	25
<i>Vanessa polychloros</i> — <i>V. zanthomelas</i> .	31
<i>Melanargia galathea</i> — <i>M. lachesis</i> . . .	24
<i>Polyommatus argyrognomon</i> — <i>P. idas</i> . .	24
<i>Hesperia serratulae</i> — <i>H. onopordi</i> . . .	30

Verschiedene Chromosomenzahlen haben folgende 18 nächstverwandte Arten:

<i>Pieris manni</i> 25 — <i>P. ergane</i> 26.
<i>Leptidea sinapis</i> 26—41, <i>L. morsei</i> 54, <i>L. duponcheli</i> 104.
<i>Cupido argiades</i> 24, <i>C. alcetas</i> 26, <i>C. decolorata</i> 25.
<i>Polyommatus icarus</i> 23, <i>P. thersites</i> 24, 25.
<i>Polyommatus idas</i> 24, <i>P. argus</i> 23.
<i>Erebia medusa</i> 11, <i>E. oëme</i> 14.
<i>Hesperia sao</i> 31, <i>H. orbifer</i> 30.
<i>Hesperia serratulae</i> 30, <i>H. alveus</i> 24.

Es sei betont, daß es sich hier nur um nächstverwandte Arten handelt, die sich so nahe stehen, daß in den meisten Fällen erst genaue neuzeitliche Untersuchungen und eine klare Erfassung des Speziesbegriffes sicheren Entscheid über ihre systematische Stellung bringen konnten.

Wenn aus diesen noch dürftigen Angaben irgendwelche Schlüsse gezogen werden dürfen, so ist es jedenfalls bemerkenswert, daß bei den nächstverwandten Arten Zahlverschiedenheit im Karyotypus häufiger ist als Identität. Diese Tatsache deckt sich mit der oben geäußerten Annahme, daß bei den Lepidopteren eine Veränderung der Chromosomenzahl und die Artenentstehung Hand in Hand gehen, was auch mit den neuen Befunden der Genetik übereinstimmt, wonach „Chromosomenmutationen und Bastardierung tatsächlich neue Formen schaffen“ (GEITLER, S. 282).

#### Zusammenfassung.

Es wurden 85 Arten der Tagfalter (*Rhopalocera* und *Hesperoidea*) auf ihre Chromosomenzahlen in den beiden Reifeteilungen der Spermatogenese untersucht, wobei größtenteils die Imaginalhoden Verwendung fanden. Von 58 untersuchten Arten waren die Chromosomenzahlen noch nicht bekannt.

1. Bei den Tagfaltern wurden 2 Zahlen als häufigst vorkommende festgestellt: 29 und 31, zum Unterschied von den Schmetterlingen im allgemeinen, die nur eine häufigste Zahl aufweisen (31). Hinter beiden genannten Zahlen bleibt die Zahl 24, die der Grundzahl der Familie *Lycaenidae* entspricht, nicht weit zurück.

2. Als niedrigste Zahl wurden 11 Chromosomen bei *Erebia medusa* gefunden. Die höchste Chromosomenzahl kommt bei der Pieridae

*Leptidea duponcheli* vor, die 104 Chromosomen hat; das ist die zweithöchste Zahl der Lepidopteren überhaupt, da bei der Geometride *Phigalia pedaria* 112 Chromosomen vorkommen (REGNART).

3. Die von FEDERLEY als Sammelchromosomen bezeichneten großen Chromosomen der Arten mit kleiner Chromosomenzahl sind nach allem was über ihren Bau bekannt ist, gewöhnliche Einzelchromosomen. Als Sammelchromosomen ließen sich nur einige lange, gebogene oder V-förmige Chromosomen von *Leptidea sinapis* bezeichnen, da sie in ihrer Gestalt und Anzahl der Spindelfasern deutlich ihre Zusammensetzung aus 2 oder mehr Chromosomen erkennen lassen.

4. Der Chromosomensatz von *Leptidea sinapis* ist, wenn nicht der inkonstanteste so jedenfalls einer der inkonstantesten im Tierreiche, da die Chromosomenzahlen zwischen 26 und 41 variieren, während die Chromosomenzahl bei den Tagfaltern sonst um nicht mehr als ein Chromosom, ausnahmsweise um deren 2 bei einer und derselben Art schwankt. In der Mehrzahl der Fälle ist die Regel der Zahlenkonstanz auch für die Tagfalter gültig.

5. Der auffallendste Befund dieser Untersuchungen sind Chromosomenzahlen, die eine genaue oder fast genaue Verdoppelung oder Vervielfachung einzelner Grundzahlen darstellen: 23—45—90 in der Gattung *Polymmatius*, 28—54—104 bei *Leptidea*, und 20—40 bei *Erebia*. Die bisherige Ansicht, die die Ursache ähnlicher Zahlenverhältnisse bei den Nachfaltern in der Fragmentation sah, ist mit dem heutigen Stand der Chromosomenforschung nicht vereinbar. Es bleibt somit nur die Polyploidie übrig, für die auch eine Reihe von Tatsachen spricht.

6. Die Abweichungen der Chromosomenzahl von der Grundzahl ließen sich in kein Abhängigkeitsverhältnis zu den Außenfaktoren bringen.

7. Die Grundzahl mehrerer Tagfaltergattungen und einer ganzen Familie weicht beträchtlich von der Grundzahl der Lepidopteren ab (*Pieris* 25, *Melanargia* 24, *Erebia* 20, die Familie *Lycaenidae* 24), weshalb der Chromosomenzahl, entgegen den Befunden BELIAJEFFS, auch systematischer Wert zukommt. In etwa der Hälfte der Fälle ist die Chromosomenzahl als ein gutes systematisches Unterscheidungsmerkmal nächstverwandter Arten verwendbar.

#### Schriftenverzeichnis.

- Bauer, H.: Chromosomenforschung (Karyologie und Cyto-genetik). Fortschr. Zool., N. F. 5 (1941). — Belar, K.: Die cytologischen Grundlagen der Vererbung. Handbuch der Vererbungswissenschaften, Bd. 1. 1928. — Beliajeff, N. K.: Die Chromosomenkomplexe und ihre Beziehung zur Phylogenie bei den Schmetterlingen. Z. Abstammungslehre 54 (1930). — Cretschmar, M.: Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese von *Orygia thyellina* und *antiqua* sowie eines ihrer Bastarde. Z. Zellforsch. 7 (1928). — Dederer, P. H.: Variations in chromosome number in the

- spermatogenesis of *Philosamia cynthia*. J. of Morphol. 45 (1928). — Fasten, N.: Spermatogenesis of the American crayfish *Cambarus virilis* und *Cambarus immnis* (?), with special reference to synapsis and chromatoid bodies. J. of Morphol. 25 (1914). — Federley, H.: Chromosomenanalyse der reziproken Bastarde zwischen *Pygmaea pigra* und *P. curtula* sowie ihrer Rückkreuzungsbastarde. Z. Zellforsch. 12 (1931). — Chromosomenzahlen finnländischer Lepidopteren. I. *Rhopalocera*. Hereditas 24 (1938). — Forster, W.: Beitrag zur Systematik des Tribus *Lycaenini*. Mitt. Münch. entomol. Ges. 26 (1936). — Das System der paläarktischen Polyommatini (*Lep. Lycaen.*). Mitt. Münch. entomol. Ges. 28 (1938). — Frolowa, S. L. u. B. L. Astaurov: Die Chromosomengarnitur als systematisches Merkmal. (Eine vergleichende Untersuchung der russischen und amerikanischen *Drosophila obscura*-Fälle.) Z. Zellforsch. 10 (1930). — Geißler, L.: Grundriß der Cytologie. Berlin: Gebrüder Bornträger 1934. — Goldschmidt, R.: Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. IV. Die Sammelchromosomen der Schmetterlinge. Arch. exper. Zellforsch. 17 (1923). — Harvey, E. B.: A review of the chromosome numbers in the Metazoa. J. of Morph. 34 (1920). — Henking, H.: Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. I. Das Ei von *Pieris brassicae* L. nebst Bemerkungen über Samen und Samenbildung. Z. wiss. Zool. 49 (1890). — Lorkovic, Z.: Bedeutung des Genitalapparates für die Systematik der Lycaeniden. Acta Soc. entomol. Jugosl. (kroat.) 5/6 (1930). — Verwandtschaftliche Beziehungen in der *morsei-major-sinapis*-Gruppe des Genus *Leptidea*. (Kritischer Beitrag zur Auffassung des Speziesbegriffes.) Z. österr. entomol. Vereines. 15 (1930). — Studien über den Speziesbegriff. II. Artberechtigung von *Everses argiades* Pall., *E. alcetas* Hfigg. und *E. decolorata* Stgr. Mitt. Münch. entomol. Ges. 28 (1938). — Entomološka istraživanja u Vardarskoj banovini. Bull. jugosl. Akad. Wiss. (kroat.) 51 (1939). — Muller, H. J.: Why polyploidy is rarer in animals than in plants. Amer. Naturalist 59 (1925). — Niiyama, H.: The chromosomes of the edible crab, *Paralithodes camtschatica* (Tilesius). J. Fac. Sci. Hokk. Imp. Univ., s. VI, 4 (1935). — Oguma, K. and S. Makino: A new list of the chromosome numbers in Vertebrata. J. Fac. Sci. Hokk. Imp. Univ., s. VI, 5 (1937). — Seiler, J.: Geschlechtschromosomen-Untersuchungen an Psychiden. IV. Die Parthenogenese der Psychiden. Z. Abstammungslehre 31 (1923). — Zytologische Vererbungsstudien an Schmetterlingen. I. Ergebnisse aus Kreuzungen von Schmetterlingsrassen mit verschiedener Chromosomenzahl. Ein Beweis für das Mendeln der Chromosomen. Arch. Klaus-Stiftg 1 (1925). — Trankowsky, O. A.: Leitkörperchen der Chromosomen bei einigen Angiospermen. Z. Zellforsch. 10 (1930). — Wettstein, F. v.: Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. Z. Abstammungslehre 74 (1937).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Abteilung M. HARTMANN,  
Berlin-Dahlem.)

# DIE CHROMOSOMEN IN DER SPERMATOGENESE EINIGER NEMATOCEREN<sup>1</sup>.

Von

ERICH WOLF.

Mit 22 Textabbildungen (205 Einzelbildern).

(Eingegangen am 15. April 1941.)

## Inhaltsübersicht.

	Seite
A. Einleitung . . . . .	192
B. Material und Technik . . . . .	193
C. Spezieller Teil . . . . .	194
I. Typische Spermatogenese . . . . .	194
1. <i>Dicranomyia trinitata</i> MEIG. . . . .	194
a) Allgemeiner Ablauf . . . . .	194
b) Beobachtungen über Strukturheterozygotie . . . . .	201
2. <i>Thaumastoptera calceata</i> MIK. . . . .	206
3. <i>Tendipes plumosus</i> MEIG. . . . .	207
4. <i>Glyptotendipes barbipes</i> STGR. . . . .	210
5. <i>Phalacrocer replicata</i> L. . . . .	211
6. <i>Dictenidia bimaculata</i> L. . . . .	218
II. Atypische Spermatogenese . . . . .	221
1. <i>Penthetria holosericea</i> MEIG. . . . .	221
2. <i>Scatopse notata</i> MEIG. und unbestimmte Scatopside . . . . .	229
Anhang: <i>Thaumalea testacea</i> ROND. . . . .	233
D. Allgemeiner Teil . . . . .	235
I. Die Chromosomensätze der Nematoceren . . . . .	235
II. Vorkommen und Verhalten der kleinen Chromosomen . . . . .	237
III. Die Meiose der Dipteren . . . . .	239
Zusammenfassung . . . . .	245
Schriftenverzeichnis . . . . .	246

## A. Einleitung.

Das Grundschema der Meiose ist bei allen Organismen durch parasyndetische Paarung der Homologen und anschließende Chiasmabildung gekennzeichnet. In manchen Untersuchungen wurden zwar Paarungsmodi beschrieben, die auf metasyndetische Vereinigung der Homologen zurückgeführt werden, doch hat sich von diesen keiner als beweiskräftig gezeigt. Es handelte sich hierbei stets um schwierig zu bearbeitende Gruppen. Als sichere Abweichungen vom normalen Meioseschema stellte sich dagegen unter anderem ein Paarungsmodus heraus, der durch den Ausfall des typischen Diplotäns und das Ausbleiben der Chiasmabildung gekennzeichnet ist. Besonders bei den brachyceren Dipteren erwies sich dieser Meiosetypus seit den Untersuchungen von STEVENS und

<sup>1</sup> D 11.

METZ als allgemein verbreitet. Dagegen hat die Bearbeitung der Spermatogenese mancher Nematoceren gezeigt, daß hier typische Meioseabläufe vorliegen. Es wurde damit die Frage nach der Verbreitung der atypischen Meiose innerhalb der Ordnung der Dipteren wichtig; denn es schien nicht ausgeschlossen, daß sich zwischen diesen zwei Meioseformen bei noch nicht untersuchten Arten Abläufe finden lassen würden, die einen Übergang zwischen den gefundenen Extremen darstellten.

In der vorliegenden Arbeit wurde durch die Untersuchung einiger Arten aus einer Reihe von Nematocerenfamilien dieser Frage nachgegangen, wobei es darauf ankam, auch die feineren cytologischen Einzelheiten in dem Verlaufe der Meiose darzustellen.

Bei der Bearbeitung der Spermatogenesen bot sich die Gelegenheit, das Auftreten und Verhalten von Heterochromosomen zu untersuchen. Die außerordentliche Variabilität in Auftreten und Verhalten dieser Chromosomen bei den Nematoceren macht diese Gruppe besonders geeignet für eine vergleichende Analyse, die zugleich auch Aufschlüsse über allgemeine Fragen des Chromosomen-Formwechsels verspricht.

Herrn Professor Dr. M. HARTMANN möchte ich meinen aufrichtigen Dank aussprechen für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seiner Abteilung und die vielseitige Anregung. Besonders danke ich Herrn Dr. H. BAUER, der mir das Thema vorschlug, zahlreiche Präparate zur Verfügung stellte und die Arbeit durch Rat und Kritik förderte. Herrn Professor Dr. A. THIENEMANN, Plön, sowie Herrn Professor Dr. F. PEUS, Dahlem, bin ich für die Hilfe bei der Beschaffung des lebenden Materials zu großem Dank verpflichtet.

### B. Material und Technik.

Es wurden folgende Mückenarten<sup>1</sup> bearbeitet:

	Familie	Art	Herkunft
1	Thaumaleidae	<i>Thaumalea testacea</i> ROND.	Quellbach östlich Bukow (Brandenburg)
2	Bibionidae	<i>Penthetria holosericea</i> MEIG.	Naturschutzgebiet Schildow (Berlin) und Ufer des Kellerses (Holstein)
3	Scatopsidae	<i>Scatopse notata</i> MEIG.	Dahlem
4	"	Unbestimmte Scatopside*	Dahlem
5	Tendipedidae	<i>Glyptotendipes barbipes</i> STGR.	Tümpel bei Plön (Holstein)
6	"	<i>Tendipes plumosus</i> MEIG.	Großer Plöner See (Holstein)
7	Limoniidae	<i>Dicranomyia trinotata</i> MEIG.	Großer Plöner See (Holstein), in <i>Cladophora</i> -Rasen
8	"	<i>Thaumastoptera calceata</i> MIK.	Sickerquellen am Kellerssee (Holstein)
9	Tipulidae	<i>Dictenidia bimaculata</i> L.	Modriges Holz eines Apfelbaumes (Berlin)
10	Cylindrotomidae	<i>Phalacropera replicata</i> L.	Tümpel bei Bellinchen (Oder)

<sup>1</sup> In der Benennung ist LINDNERS „Fliegen der paläarktischen Region“ gefolgt worden. — <sup>2</sup> Die Kulturen dieser Art starben aus, ehe die Bestimmung vorgenommen worden war. Die Mücken waren etwas kleiner als *S. notata*.

Zur Untersuchung wurden stets nur Larven verwandt, da in ihnen bereits die gesamte Spermatogenese abläuft. Die einzigen Arten, die in Kultur gehalten wurden, sind die Scatopsiden. Als Medium dienten feuchte Sägespäne mit Kartoffelflocken und Hefe nach dem von Fräulein Dr. LERCHE für *Phryne* ausgearbeiteten Verfahren.

Die Präparation wurde in der Hämolymphe oder in RINGER-Lösung vorgenommen. Gewöhnlich quillt der gesamte Körperinhalt nach dem Abschneiden des Hinterendes der Larven heraus; die Gonaden liegen im Fettkörper eingebettet. Das Fixierungsmittel wird auf die freigelegten Gonaden getropft und diese dann in die reine Fixierungsflüssigkeit gebracht.

Zur Fixierung und Färbung ist in den meisten Fällen Karminessigsäure verwandt worden [Quetsch-Dauerpräparate nach dem bei BAUER und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1939) angegebenen Verfahren]. Häufig wurden die Präparate mit BOUIN-ALLEN nachfixiert und nach FEULGEN oder auch nach HEIDENHAIN nachgefärbt. Einige der FEULGEN-Präparate wurden noch mit Lichtgrün gegengefärbt, um die Plasmakonturen und den Nukleolus besser sichtbar zu machen. Schnittpräparate wurden nur bei einzelnen Arten als Kontrolle herangezogen (Fixierung: FLEMING, Einbettung über Methylbenzoat-Celloidin).

Für die Zeichnungen wurden benutzt der Apochromat  $120\times$  und das Kompensationsokular  $20\times$  von Zeiss. Die bei einer Vergrößerung von  $3350\times$  angefertigten Zeichnungen sind im Druck auf  $\frac{4}{5}$  (etwa  $2700\times$ ) verkleinert worden. In wenigen Fällen wurden zur besseren Übersicht die Chromosomen dort, wo sie sich stark überdecken, auseinander gezeichnet; es ist das in der Erklärung der betreffenden Abbildung mit dem Zeichen  $\longleftrightarrow$  vermerkt. Das Zeichen  $\rightarrow\leftarrow$  steht für Zusammenrücken von Chromosomen bei zerdrückten Kernen.

### C. Spezieller Teil.

#### I. Typische Spermatogenese.

##### 1. *Dicranomyia trinata* MEIG.

###### a) Allgemeiner Ablauf der Spermatogenese.

In der diploiden Zelle kommen stets 3 Chromosomenpaare vor (Abb. 1a). Die Homologen liegen in der für Dipteren charakteristischen Weise gepaart. Bei allen 3 Paaren sind zwischen den Partnern weder Größen- noch Gestaltsunterschiede festzustellen. Auch strukturelle Verschiedenheiten fehlen, wie aus der Interphase, der frühen Prophase und späten Telophase hervorgeht. Heterochromatin ist im Ruhestadium nicht nachweisbar. Es sind also keine Heterochromosomen vorhanden. 2 der Paare sind V-förmig, haben einen nahezu medianen Spindelansatz und sind in der Größe kaum unterscheidbar. Das 3. Paar ist kleiner und ungleichschenkelig; die Längen seiner Arme verhalten sich etwa wie 1 : 3.

In der *Spermatogonien*-Metaphase erreichen die Chromosomen das Maximum an Kontraktion (Abb. 1a und b). Die Größenunterschiede der Chromosomen in Abb. 1b gegenüber Abb. 1a sind auf verschiedene Behandlung der Präparate zurückzuführen. Die Spindelansätze sind der Spindelmittle zugekehrt. Die Anaphase zeigt keine Besonderheiten (Abb. 1c). Mit der Annäherung an den Spindelpol rücken die proximalen Teile der Tochterchromosomen immer enger aneinander, während



die Enden anfangs mehr, später immer weniger divergieren (Abb. 1d), bis sie parallel liegen. Am Pol verklumpen die Chromosomen. Während der nun folgenden telophasischen Auflockerung treten deutliche Spiralen

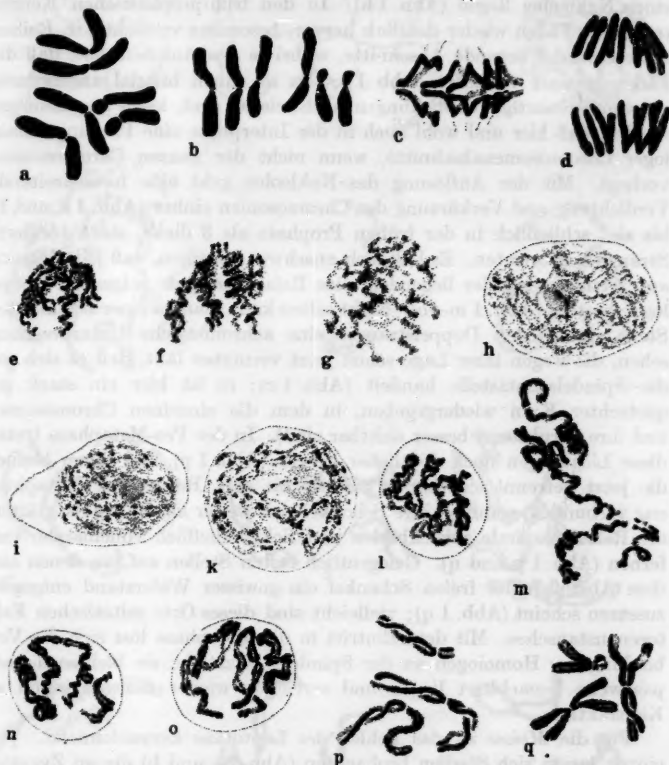


Abb. 1 a—q. *Dicranomyia trinotata*. Spermatogonien. a, b Metaphase, Äquatorialplatte. c frühe, d späte Anaphase, e—g späte Telophase. h Ruhekern, e sehr frühe, k frühe Prophase. l—o mittlere bis späte Prophase (der Kern in m ist stark gequetscht). p frühe, q späte Prometaphase. Bei p Relationsspirale noch vorhanden, bei q nicht mehr vorhanden. a, d—i Karmin-Essigsäure (KES). b KES, FEULGEN. c KES, BOVIN-ALLEN (B-A), FEULGEN, Lichtgrün. Bei p ↔.

auf (Abb. 1e). An der dem Pol abgewandten Seite treten die sich entspiralisierenden Enden der Chromosomen besonders deutlich hervor. Hierbei scheint es, als wenn die Homologen nicht nur miteinander gepaart, sondern umeinander gewunden sind (Abb. 1f). Es scheint also mit der Entspiralisierung eine Relationsspirale aufzutreten. In dem sich

dem Ruhestadium nähernden Kern, der sich unter Flüssigkeitsaufnahme vergrößert, werden die Spiralen immer zarter (Abb. 1 g). Im Ruhekern sieht man zwischen den nur kurze Strecken weit verfolgbar Fäden einen Nukleolus liegen (Abb. 1 h). In den früh-prophasischen Kernen treten die Fäden wieder deutlich hervor, besonders verdickte, in Reihen hintereinander liegende Abschnitte, wobei es den Anschein hat, daß die Fäden gepaart verlaufen (Abb. 1 i). Da an ihnen biserial angeordnete chromomerenartige Verdickungen nachweisbar sind, kann angenommen werden, daß hier und wohl auch in der Interphase eine Paarung homologer Chromosomenabschnitte, wenn nicht der ganzen Chromosomen, vorliegt. Mit der Auflösung des Nukleolus geht eine fortschreitende Verdichtung und Verkürzung der Chromosomen einher (Abb. 1 k und l), bis sie schließlich in der frühen Prophase als 3 dicke, stark tordierte Stränge hervortreten. Es läßt sich unschwer erkennen, daß jeder Strang aus 2 eng aneinander liegenden, eine Relationsspirale zeigenden Homologen besteht (Abb. 1 m—o). Nicht selten kann man an einer bestimmten Stelle eines jeden Doppelstranges eine achromatische Unterbrechung sehen, die wegen ihrer Lage schon jetzt vermuten läßt, daß es sich um die Spindelansatzstelle handelt (Abb. 1 m; es ist hier ein stark gequetschter Kern wiedergegeben, in dem die einzelnen Chromosomen und ihre Strukturen besser sichtbar sind). In der Pro-Metaphase treten diese Lichtungen noch deutlicher hervor (Abb. 1 p). An ihnen bleiben die jetzt getrennt sichtbaren Partner bis zum Beginn der Metaphase eng verbunden, während ihre Schenkel sich weiter kontrahieren, glätten, die Relationsspirale zurückbilden und sich schließlich voneinander entfernen (Abb. 1 p und q). Gelegentlich treten Stellen auf, an denen sich dem Abstoßen der freien Schenkel ein gewisser Widerstand entgegenzusetzen scheint (Abb. 1 q); vielleicht sind dieses Orte mitotischen Faktorenaustausches. Mit dem Eintritt in die Metaphase löst sich die Verbindung der Homologen an der Spindelansatzstelle; sie bleiben danach paarweise benachbart liegen und erreichen wieder das Maximum an Kontraktion.

Für die *Meiose* ist das Fehlen des Leptotäns kennzeichnend. Vereinzelt lassen sich Stadien beobachten (Abb. 2 a und b) die an Zygotänbilder erinnern; doch ist es fraglich, ob sie diesen wirklich entsprechen. Während nämlich gewöhnlich der Paarungsvorgang an den Enden einsetzt, sind die Chromosomen hier an mehreren Stellen gepaart. Es ist eher anzunehmen, daß die somatisch gepaart in die Wachstumsperiode eintretenden Chromosomen von Anfang an streckenweise eng gepaart sind, wobei der Übergang zum Pachytän nur durch die Vervollständigung der Paarung vollzogen wird. Das Pachytän ist das früheste genau analysierbare Stadium. Aus dem Überwiegen der in ihm befindlichen Zellen läßt sich schließen, daß es sehr lange währt. Ein Habitusbild des Pachytänkerns gibt Abb. 2 c. Im Quetschpräparat lassen sich 3 dem Chromo-

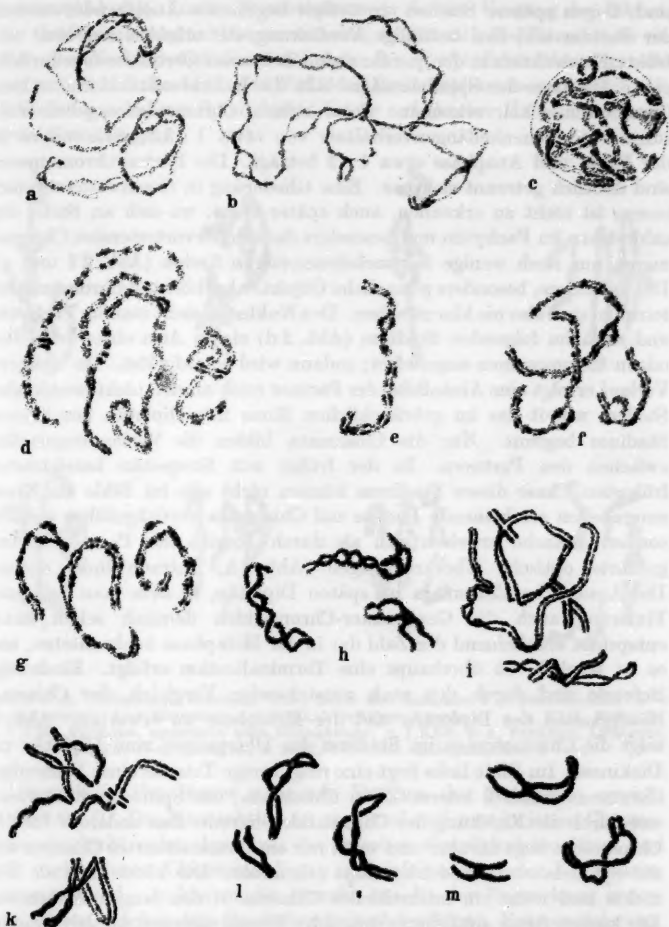


Abb. 2 a—m. *Dicranomyia trinotata*. Spermatocyten I, Wachstumsstadien. a, b präpachytänes zygotänartiges Stadium. c Habitusbild eines Pachytänkernes. d etwas späteres Stadium, in dem Abstoßung an den Spindelansätzen erfolgt; gequetschter Kern. e das kleine Chromosom im gleichen Stadium aus einem anderen Kern. f, g postpachytänes Stadium. h Diplotän. i, k frühe, l, m mittlere Diakinese. a, b, h KES, FEULGEN. c, d KES, B-A, FEULGEN, Lichtgrün. e KES, f, g, i KES, B-A, HEIDENHAIN. Bei i  $\longleftrightarrow$ , bei l, m  $\rightarrow\leftarrow$ .

somensatz entsprechende Fäden unterscheiden, deren Paarnatur klar erkennbar ist. Wo in ihrem Verlauf die Spindelansatzstellen zu vermuten

sind, zeigen spätere Stadien ein örtlich begrenztes Auseinanderweichen der Partner und eine auffällige Verdickung, die offenbar auf eine verfrühte Kontraktion in den proximalsten Teilen der Chromosomen zurückgeht. Die Lage der Spindelansätze läßt die Individualität der einzelnen Chromosomen klar erkennen. Beim kleinen Chromosom ergeben Messungen ein Schenkellängenverhältnis von etwa  $1 : 3,5$ , während es in der Meta- und Anaphase etwa  $1 : 3$  beträgt. Die Partnerchromomeren sind deutlich getrennt sichtbar. Eine Gliederung in Geschwisterchromomeren ist nicht zu erkennen, auch später nicht, wo sich an Stelle der zahlreichen im Pachytän und besonders danach hervortretenden Chromomeren nur noch wenige Sammelchromomeren finden (Abb. 2 f und g). Die für andere, besonders pflanzliche Objekte abgebildeten Chromomeren-tetraden sind also nie klar zu sehen. Den Nukleolus sieht man im Pachytän und noch im folgenden Stadium (Abb. 2 d) einem Arm eines der V-förmigen Chromosomen angeheftet; sodann wird er aufgelöst. Im weiteren Verlauf erfolgt eine Abstoßung der Partner auch an den nicht proximalen Stellen, womit das im gebräuchlichen Sinne mit Diplotän bezeichnete Stadium beginnt. Nur die Chiasmata bilden die Verbindungsstellen zwischen den Partnern. In der früher mit Strepsitän bezeichneten frühesten Phase dieses Stadiums können nicht alle im Bilde als Kreuzungsstellen erscheinende Punkte auf Chiasmata zurückgeführt werden, sondern manche erweisen sich als durch Torsion der Partner herbeigeführte optische Überkreuzungen (Abb. 2 h, Tetrade links unten). Die Anzahl der Chiasmata im späten Diplotän, in dem man bei guter Fixierung auch die Geschwister-Chromatiden deutlich sehen kann, entspricht anscheinend der Zahl der in der Metaphase beobachteten, und es ist fraglich, ob überhaupt eine Terminalisation erfolgt. Eindeutige Befunde sind durch den noch ausstehenden Vergleich der Chiasma-Häufigkeiten des Diplotäns und der Metaphase zu erwarten. Abb. 2 i zeigt die Chromosomen im Stadium des Überganges vom Diplotän zur Diakinese. Im Bilde links liegt eine ringförmige Tetrade eines V-förmigen Chromosoms mit 2 interstitiellen Chiasmata; die Spindelansätze treten nur durch die Knickung der Chromatiden hervor. Das andere V-förmige Chromosom liegt darüber und weist nur ein terminalisiertes Chiasma auf; die Spindelansätze sind hier nicht erkennbar. Die kleine Tetrade liegt rechts und weist ein interstitielles Chiasma in den langen Armen auf. Die kurzen Arme sind durch deutliche Einschnürungen an den Spindelansätzen abgesetzt. Einige Bilder lassen annehmen, daß es in der Diakinese zur Bildung der Großspirale kommt. Aus Abb. 2 k ist ersichtlich, daß zuerst die freien Arme (obere Tetrade) und die distalwärts der Chiasmata gelegenen freien Enden (untere Tetrade) spiralisiert werden. Gewöhnlich sind in der Diakinese die Geschwister-Chromatiden nicht mehr zu unterscheiden (Abb. 2 l und m), zuweilen treten die Spindelansätze der Partner durch verstärkte Spiralisation in ihrem Bereiche

hervor (Abb. 21). In der Prometaphase, in der der Vorgang der Bildung der Großspirale abgeschlossen erscheint, stellen sich die Tetraden so ein, daß die Verbindungslinien zwischen ihren Spindelansätzen parallel verlaufen (Abb. 3 a—c). Am Ende der Prometaphase bewegen sich alle Tetraden parallel zur Spindelachse bis sie auf gleicher Höhe in der Äquatorialplatte liegen.

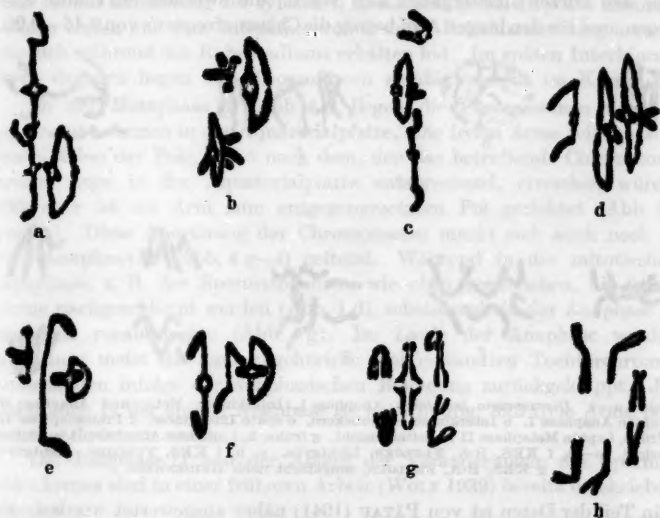


Abb. 3 a—h. *Diceranomyia trinotata*. Pro-, Meta- und Anaphase I in Seitenansicht. a—c Prometaphase. d—f Metaphase. g frühe, h mittlere Anaphase. a, e KES, FEULGEN. b, d KES, FEULGEN, umgefärbt nach HEIDENHAIN. c, f KES, B-A, FEULGEN, Lichtgrün. g KES, B-A, FEULGEN, h KES, FEULGEN, Lichtgrün. Bei g →.

Hiermit ist das länger währende Stadium der Metaphase erreicht (Abb. 3 d—f). Die Kontraktion ist maximal und nur in jenen Chromosomenabschnitten herabgesetzt, die zwischen den Spindelansätzen und evtl. vorhandenen Chiasmata liegen und infolgedessen der Zugwirkung ausgesetzt sind. Je kleiner die Strecke ist, die der Zugwirkung unterliegt, desto stärker ist die dadurch herbeigeführte Entspiralisierung. Der Vergleich verschiedener Metaphasestadien lehrt, daß die Lage der Chiasmata in allen 3 Tetraden weitgehend variabel ist, daß aber für die Zahl eine obere Grenze besteht. So kommen pro Tetrade nie mehr als 3 Chiasmata vor. *Diceranomyia* eignet sich sehr gut für statistische Untersuchung der Korrelationen bei der Chiasmabildung. In günstigen Präparaten können mehrere hundert Zellen pro Gonade ausgewertet werden, wobei man unterscheiden kann zwischen Chiasmata in den großen

Chromosomen, in dem kurzen und im langen Arm des kleinen Chromosoms. Bei der Auszählung von 1790 Kernen aus 6 Individuen ergaben sich für die Chiasmahäufigkeiten pro Zelle Werte zwischen 3,39 und 4,17. Dabei entfielen auf die großen Chromosomen 2,38—3,17 und auf die kleinen 0,98—1,02 Chiasmata. Die Schwankungen innerhalb des kurzen und des langen Armes des 3. Chromosoms erwiesen sich als relativ hoch. Für den kurzen Arm ergaben sich Werte, die zwischen 0,11 und 0,58 liegen, und für den langen Arm betrug die Chiasmafrequenz von 0,44—0,90.

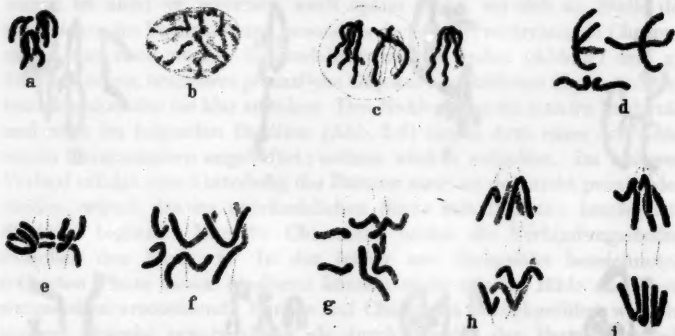


Abb. 4 a—i. *Diceranomyia trinotata*. Anaphase I, Interkinese, Meta- und Anaphase II. a späte Anaphase I, b Interkinese — Ruhekern, c späte Interkinese, d Prometaphase II, e frühe, f späte Metaphase II in Seitenansicht, g frühe; h, i mittlere Anaphase II in Seitenansicht. a—d, f KES, B-A, FEULGEN, Lichtgrün, e, h, i KES, FEULGEN, Lichtgrün. g KES, B-A, FEULGEN, ungefärbt nach HEIDENHAIN.

Ein Teil der Daten ist von PÄTAU (1941) näher ausgewertet worden. Er findet für dieses Chromosom positive Interferenz der Chiasmata über den Spindelansatz hinweg.

Die frühe Anaphase I läuft sehr rasch ab; denn sie ist verhältnismäßig selten zu finden. In einigen günstigen Fällen (Abb. 3 g, besonders die rechte Tetrade) zeigt sich, daß die distalwärts von einem Chiasma gelegenen stark spiralisierten Abschnitte ihre Kontraktion beibehalten, sich also kurz nach dem Lösen der Partner voneinander deutlich von den proximalwärts gelegenen gestreckten Abschnitten absetzen. Bald nach der Trennung der Partner voneinander kontrahieren sich die gedehnten Abschnitte wieder und sind von den distalen nicht mehr abgesetzt, also im Spiralisationsgrad nicht mehr unterschieden (Abb. 3 h). Der Äquationsspalt zwischen den Partnern, der im Laufe der Kontraktion zwischen Diakinese und Metaphase vorübergehend verschwindet, kommt in der Metaphase wieder zum Vorschein, und vom Beginn der Anaphase an weichen die Spaltheilften ganz auseinander; nur an den Spindelansätzen bleiben sie fest verbunden (Abb. 3 g und h). Nach der späten Anaphase (Abb. 4 a) verklumpen die Chromosomen, lockern sich



danach auf und bilden in der Interkinese einen Ruhekern (Abb. 4 b), der sich von gewöhnlichen Ruhekernen nur darin unterscheidet, daß die Fäden kompakter bleiben, anstatt eine feine netzige Struktur zu bilden. Dieser Interkinese-Ruhekern tritt sehr bald in eine Prophase ein, die dem normalen Interkinesetypus gleicht (Abb. 4 c). Die freien Arme der Äquationshälften spreizen sich voneinander, spiralisieren und verkürzen sich bis zur Erreichung der typischen Kreuzform (Abb. 4 d). Die Chromosomen treten aus dem Interkineseruhekern in Polfeldanordnung heraus, die sich während des Ruhestadiums erhalten hat. Im späten Interkinesekern dagegen liegen die Chromosomen zufällig verteilt im Kernraum.

In der Metaphase II (Abb. 4 f) liegen die Chromosomen mit abgespreizten Armen in der Äquatorialplatte. Die freien Arme zeigen dabei nach einem der Pole, meist nach dem, den das betreffende Chromosom, seiner Lage in der Äquatorialplatte entsprechend, erreichen würde. Oft aber ist ein Arm zum entgegengesetzten Pol gerichtet (Abb. 4 f rechts). Diese Anordnung der Chromosomen macht sich auch noch in der Anaphase II (Abb. 4 g—i) geltend. Während in der mitotischen Anaphase, z. B. der Spermatogonien, wie oben beschrieben, die freien Arme nachgeschleppt werden (Abb. 1 d), scheinen sie in der Anaphase II zuweilen voranzueilen (Abb. 4 g). Im Laufe der Anaphase werden allerdings meist die zum zugehörigen Pol gewandten Tochterchromosomenenden infolge der anaphasischen Bewegung zurückgeklappt. Jedoch auch in der späten Anaphase ist noch häufig, daß freie Arme polwärts gekrümmt sind.

Die Telophase II und der Ablauf der Veränderungen des Spermatidkernes sind in einer früheren Arbeit (WOLF 1939) bereits beschrieben worden.

#### *b) Beobachtungen über Strukturheterozygotie.*

In der untersuchten Population traten außerordentlich viele Strukturheterozygoten auf, die sich als Inversionsheterozygoten erwiesen. Bei ihnen finden sich sehr häufig Brücken und anomale Spermienkerne. Brücken werden hierbei sowohl in der Anaphase I als auch in der Anaphase II gebildet. Anaphase II-Brücken sind von zweierlei Art: Sie können entweder als Anaphase I-Brücken aufgetreten und in die zweite Reifeteilung hinübergeschleppt worden sein, oder sie sind echte, erst hier auftretende Anaphase II-Brücken.

Alle Brücken gehen zurück auf Chiasmabildung innerhalb von Inversionen. So führt ein einzelnes Intrainversionschiasma zu einer Brücke in der Anaphase I (Abb. 5 a). Die Anaphase I-Brücke kommt auch dann zustande, wenn außer dem Intrainversionschiasma ein komparates (reziprokes oder kompensatorisches) Chiasma im proximalwärts der Inversion befindlichen Abschnitt auftritt. In allen Fällen erscheint ein azentrisches Fragment.

In den verhältnismäßig seltenen Fällen, in denen außer dem Intra-inversionschiasma ein disparates Chiasma im proximalen Paarungsabschnitt erscheint, also Dreistrang-Doppelaustausch vorliegt, kommt es zur Bildung einer ringförmigen Chromatide, die zur Brückenbildung

in der Anaphase II (Abb. 5d) führt. Hierbei tritt ebenfalls, jedoch schon in der Anaphase I ein Fragment auf, das anscheinend fast immer mit in die Schwesterzelle der brückenbildenden Spermatoocyte II gelangt (Abb. 5e); denn es ist neben Anaphase II-Brücken nicht gesehen worden, sondern nur in der brückenlosen Geschwisterzelle.

Ob das damit erklärt werden kann, daß die das Fragment zusammensetzenden Chromatidenstrecken Geschwisterabschnitte derjenigen Chromatidteile sind, die dem nicht ringförmig geschlossenen Chromosomenarm angehören, welcher zum anderen Pol wandert als der Ring, ist fraglich. Es vereinbart sich das nicht mit den Befunden an Geschwisterchromatiden, die sich vom Beginn der Anaphase I an abstoßen.

Der ringförmig geschlossene Chromatidenarm, der eine Anaphase-II-Brücke ergibt, ist schon in der Metaphase II sichtbar (Abb. 5c).

Allgemein zeigt nur eine Tetrade desselben Individuums Brückenbildung. Nur in einem Fall traten sowohl bei einem der V-förmigen als auch beim kleinen Chromosom

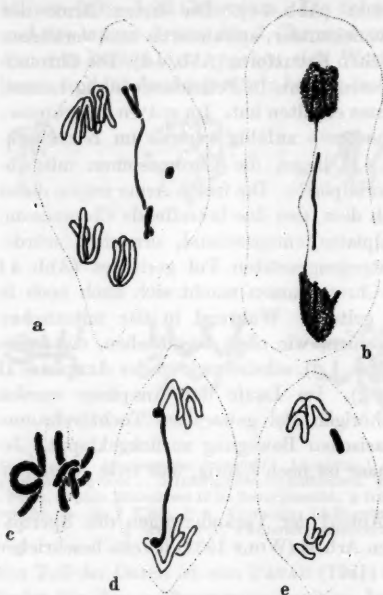


Abb. 5 a—e. *Diceromyia trinitata*. a Anaphase I mit Brückenbildung im langen Arm des kleinen Chromosoms. Im mittleren Verlauf der Brücke eine Einengung, rechts daneben das Fragment. b Telophase I mit entspiralisierter Brücke und weniger stark entspiralisiertem Fragment. c Metaphase II einer Spermatoocyte mit einer ringförmig geschlossenen Chromatide eines Schenkels bei einem der großen Chromosomen. d Anaphase II einer Spermatoocyte mit der aus einer ringförmig geschlossenen Chromatide des langen Armes von kleinen Chromosom hervorgegangenen Brücke. e Anaphase II einer Spermatoocyte mit einem aus der RT. I stammenden Fragment, a, b, d KES, FEULGEN, Lichtgrün. c, e KES.

Brücken auf. Da von den Pachytänchromosomen gute Bilder nur selten zu erhalten sind, ließen sich typische Inversionsschlingen hier nicht erkennen. Man sieht nur an einer Stelle des betreffenden Fadenpaares entweder noch unvollständige oder einsetzende Paarung unter Bildung einer Doppelschlinge (8) oder unregelmäßige Schlingenbildung, die nicht sehr deutlich ist.

Das Schicksal der Brücken und Fragmente ist verschieden. Die Brücke kann reißen und ihre Teile können in die Tochterkerne einbezogen werden. War ein Fragment vorhanden, so gelangt es bei der Plasmadurchschnürung zufallsgemäß in eine der Tochterzellen. Wenn die Brücke nicht reißt, bleibt eine Plasmaverbindung erhalten.

In der frühen Anaphase I ist der Spiralisationsgrad der die Brücken bildenden Chromatidenstrecken derselbe wie der der übrigen Chromosomen. Erst in der späteren Anaphase erscheint die Brücke infolge der einsetzenden Streckung etwas dünner (Abb. 5a). Im Längsverlauf der Brücke tritt oft eine median gelegene, stark verdünnte Stelle hervor. Eine solche Einengung tritt oft auch an den Brücken auf, die bereits eine Entspiralisierung erfahren und sich in der RT II wieder spiralisiert haben. Fast stets erscheint eine mediane schmale Stelle bei den von großen Chromosomen gebildeten Brücken (Abb. 6a) und meist auch bei den langen Brücken der kleinen Chromosomen (Abb. 5a, 6 b und c). Wenn die Brücke der kleinen Chromosomen kurz ist, konnte nie eine Verengung beobachtet werden; die Brücke hat dann durchgehend gleiche Dicke. Die bisherigen Untersuchungen genügen noch nicht, um über das Auftreten von nicht artifiziellen Einengungen im Verlauf der Brücke gesicherte Angaben zu machen. Deshalb ist es auch nicht möglich, diesen Erscheinungen schon jetzt eine Deutung zu geben.

Das Fragment verhält sich passiv und ist in der Regel in der Äquatorialplatte nahe der Brücke zu finden. Wenn es lang ist, zeigt es häufig eine Knickung oder ist gekrümmt, während es in allen späteren Stadien meist gerade gestreckt ist. Fragmente, die an keinen der Tochterkerne Anschluß gefunden haben und zwischen den beiden im Stadium des Interkinese-Ruhekernes befindlichen Kernen parallel zur früheren Spindelachse liegen, zeigen manchmal eine Einschnürung. Gelegentlich bildet das Fragment dann zwei stark entspiralisierte, meist ungleich große Stücke, die in Spindelachsenrichtung hintereinander liegen.

Die Weiterentwicklung der Tochterkerne hängt von der Länge der Brücke ab. Bei kurzen Brücken kommt es in der zweiten Reifeteilung zur Anlage einer gemeinsamen, diploiden, länglichen Äquatorialplatte, während bei längeren Brücken getrennte Platten entstehen. Bei genügend langen Brücken erfolgt ein zunächst ungestörter Fortgang der Entwicklung beider Tochterkerne. Die Brücke macht dann, falls ihre Enden innerhalb des Bereiches der Tochterkerne liegen, einen Spiralisationszyklus durch. In der Telophase ist sie entsprechend dünn und lang, oftmals in ihren mittleren Teilen kaum noch sichtbar (Abb. 5b). Meist ist sie gebogen, was wahrscheinlich auf den hohen Grad der Entspiralisierung zurückzuführen ist; doch wird sich das erst nach genaueren Untersuchungen an Schnittpräparaten nachweisen lassen. Das Fragment entspiralisiert sich ebenfalls vorübergehend, jedoch hinkt es in diesem Prozeß gegenüber der Brücke nach. Meist wird es während der Telophase in einen der Tochterkerne einbezogen und verhält sich dort wie

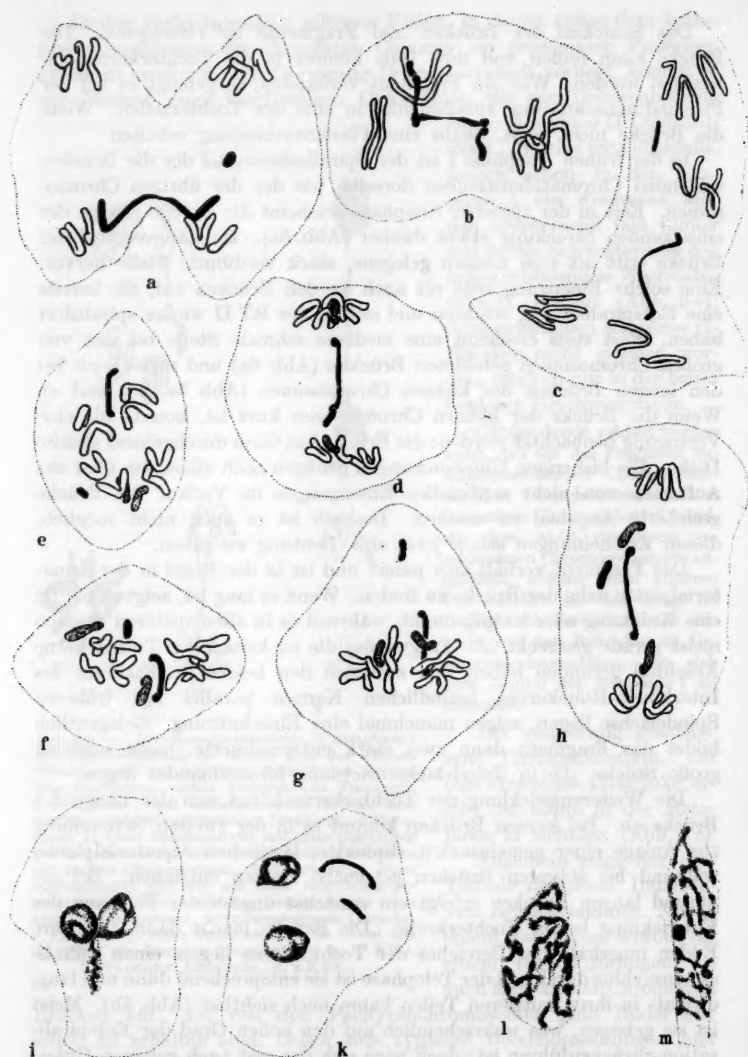


Abb. 6 a—m. *Diceranomyia trinitata*. a Anaphase II zweier Spermatiden mit einer Anaphase I-Brücke (in einem der großen Chromosomen) und Fragment. b Metaphase II zweier in gemeinsamer Zelle liegender Spermatocytenkerne mit Anaphase-I-Brücke im langen Arm und Fragment. c Anaphase II zweier durch eine Anaphase I-Brücke im langen Arm

das übrige Chromatin. In der Metaphase II sind Brücke und Fragment wieder in demselben Maße kontrahiert wie die übrigen Chromosomen (Abb. 6b). Die Spindelansätze der Brücke liegen nun in zwei verschiedenen Äquatorialplatten, trennen sich in der Anaphase II von denen der Geschwisterchromatiden und wandern an die ihrer äquatorialen Einstellung entsprechenden Pole (Abb. 6a). Das Fragment verhält sich sowohl in der Meta- wie in der Anaphase II passiv. Es liegt meist in der Gegend einer der Äquatorialplatten, jedoch ist es selten, anscheinend nur durch Zufall in sie eingeordnet. In der Anaphase bleibt es liegen (Abb. 6a und c) und wird im Laufe der Plasmadurchschnürung einer der Spermatiden zugeteilt. 2 der aus einer Spermatocyte I hervorgegangenen 4 Spermatiden bilden normale Spermien. Durch die Aufnahme des Fragments kann eine von ihnen hyperploid werden, doch nur vorübergehend, da das Fragment in den Furchungsteilungen sicher verloren geht. Die Weiterentwicklung der durch die Brücke verbundenen 2 Spermatidenkerne führt zur Bildung diploider Spermien. In diesen liegen entweder die  $2n$ -Chromosomen vereinigt (Abb. 6l) oder in 2 Kernen deutlich getrennt hintereinander. Da einer von ihnen die Brücke enthält, ist er größer als der andere (Abb. 6m). Wenn das Fragment in die diploide Spermatide gelangt, ist es gelegentlich hinter oder zwischen den Kernen daran zu erkennen, daß es in der Entspiralisierung nachhinkt.

Ganz andere kompliziertere Abänderungen der Reifeteilungen können sich dort zeigen, wo besonders kurze Brücken auftreten. Während die intakten Chromosomen in der Anaphase I an die Pole wandern, bleibt die dizentrische Chromatide infolge ihrer Kürze weit zurück. Die an den Spindelansätzen mit der Brücke verbundenen Geschwisterchromatiden lösen sich und wandern selbständig polwärts (Abb. 6h). GEITLER (1937) hat ähnliche Beobachtungen an den Brücken von *Paris quadrifolia* gemacht und dabei zwischen den sich voneinander lösenden Spindelansätzen der Geschwisterchromatiden einen feinen Faden beobachtet; ein solcher konnte bei *Dicranomyia* nicht gesehen werden. Die Tochterkerne

verbunden gebliebenen Spermatocyten, deren eine das Fragment enthält. Brücken bei a—c mit Einengung. d späte Anaphase II einer diploiden Spermatocyte II mit einer aus der I. Reifeteilung stammenden Brücke im langen Arm und mit Fragment. Die Brücke bleibt in der Äquatorialplatte liegen. e dasselbe in früher Anaphase, die Brücke an der anaphasischen Bewegung beteiligt; die selbständig bleibenden Geschwisterchromatiden der Brücke bewegen sich hier zum gleichen Pol. f, g frühe Anaphase bzw. Metaphase II mit aus der I. Reifeteilung stammenden Brücke im langen Arm und zufällig liegendem Fragment. Die Geschwisterchromatiden der Brücke (grau punktiert) keine Paarungserscheinungen zeigend und sich selbständig in die Äquatorialplatte einordnend. h späte Anaphase I mit Brücke im langen Arm und mit Fragment; die zur Brücke gehörigen Spalthälften (grau punktiert) haben sich von ihr losgelöst. i, k zwei Spermatocytenkerne im Interkinese-Ruhestadium, infolge Brückenbildung in einer gemeinsamen Zelle verblieben. Bei i die sich entspiralisierende Brücke in Verbindung mit einem der Kerne, bei k Brücke und Fragment nicht entspiralisiert, beide frei im Plasma liegend. l, k diploide Spermatidenkerne, bei l beide Chromosomenansätze miteinander vermischt, bei m getrennt nebeneinander gelegen; bei m das Fragment infolge Heteropyknose sichtbar. a KES. b—g, i, k KES. FEULGEN. Lichtgrün, h, l, m KES. B-A. FEULGEN, Lichtgrün.

gewinnen infolge der Kürze der Brücke einen größeren Abstand von dieser und gehen meist ohne sie in die Telophase über. Es kommt dabei zu keiner Plasmadurchschnürung. Die Brücke bleibt in der Äquatorialplatte liegen oder sie nähert sich etwas einem der Kerne. Sie entspiralisiert sich nur, wenn sie mit einem Ende in den Bereich eines Kernes gelangt (Abb. 6 i). Das Plasma rundet sich wieder ab und schließt in sich nun 2 Kerne im Interkinesestadium ein, außerdem die Brücke und das Fragment. Diese können beide abgesondert neben den Kernen im Plasma liegen und sind dann nicht entspiralisiert (Abb. 6 k). Diesen Stadien folgt die Bildung einer diploiden Metaphaseplatte II. Für die sehr häufigen diploiden Metaphasen ist kennzeichnend, daß sich die Dyaden zu Paaren in die Äquatorialplatte einordnen. Die Geschwisterchromatiden von Brücke und Fragment ordnen sich hier unabhängig voneinander, oft in der Nähe der Brücke in die Platte ein. Die Brücke steht in den sicher beobachteten Fällen senkrecht zur Äquatorialplatte (Abb. 6 f und g). Das Fragment liegt irgendwo im Plasma. Die Anaphase führt zu qualitativ verschiedenen diploiden Spermatiden. Es kommt zu einer inäqualen Verteilung der Brücke, des Fragments und gelegentlich auch der mit diesen homologen Chromatiden, im Gegensatz zu den mit ihnen nicht homologen, die sich äqual verteilen. Die zu Brücke und Fragment homologen Chromatiden verteilen sich vorwiegend — soweit sich das bei der verhältnismäßig geringen Zahl von beobachteten Fällen sagen läßt — äqual. Es wurde aber zweimal festgestellt, daß sie beide an einen Pol wanderten, während die Brücke an den anderen verlagert wurde (Abb. 6 e). Das Fragment gelangt zufallsgemäß in eine der Zellen. Die Brücke zeigt niemals eine Streckung, sondern bleibt kontrahiert. Es wurde beobachtet, daß sie entweder die Richtung ihrer metaphasischen Einstellung unverändert beibehaltend, an einen der Pole wandert (Abb. 6 e), oder in der Äquatorialplatte liegen bleibt (Abb. 6 d). Sämtliche aus allen diesen diploiden 2. Reifeteilungen hervorgehenden Spermien sind anomal, meist ungefähr diploid. Aus dem vereinzelt Vorkommen tetraploider Spermien kann geschlossen werden, daß gelegentlich die Plasmadurchschnürung ausbleibt und es zur Bildung eines Restitutionskerns kommt. Man kann vermuten, daß das in jenen Fällen eintritt, in denen die Brücke in der Äquatorialplatte liegen bleibt und die Plasmadurchschnürung verhindert.

## 2. *Thaumastoptera calceata* Mik.

Die Spermatogenese dieser Art, die nur vergleichsweise untersucht wurde, ähnelt sehr derjenigen von *Dicranomyia*. Die Chromosomen sind aber etwas kleiner und in ihren einzelnen Entwicklungsphasen nicht so gut zu beobachten. Die Metaphaseplatte der Spermatogonien (Abb. 7 a) zeigt 3 Paar V-förmiger Chromosomen, von denen ein Paar etwas kleiner erscheint als die anderen. In der Anaphase zeigen die Chromosomen der



Spermatogonien das gleiche typische Verhalten wie die von *Dicranomyia*. Infolge der geringen Anzahl der untersuchten Larven sind die Einzelheiten der Mitose und der Wachstumsperiode nicht analysiert worden. In der Diakinese (Abb. 7 b) treten die Tetraden in den meisten Fällen als Ringe auf, also mit terminalisierten Chiasmata. Deshalb variiert das Bild der Metaphase sehr wenig. Häufig kommen aber auch Tetraden mit nur einem Chiasma vor. Selten trifft man solche mit einem nicht-terminalisierten Chiasma an. Die Anaphase I (Abbildung 7 d) gleicht im wesentlichen der von *Dicranomyia*, weniger aber die Metaphase II (Abb. 2 n). Hier sind die Chromosomen stärker kontrahiert, die Arme sind dick und wenig gebogen, sie liegen jedoch nicht parallel wie in den Spermatogonien-Metaphasen, sondern klaffen etwas auseinander. In der Anaphase II läßt sich gelegentlich wie bei *Dicranomyia* die Erscheinung beobachten, daß ein Arm eines Tochterchromosoms mit seinem freien Ende voran zum Pol wandert (Abb. 7 f).

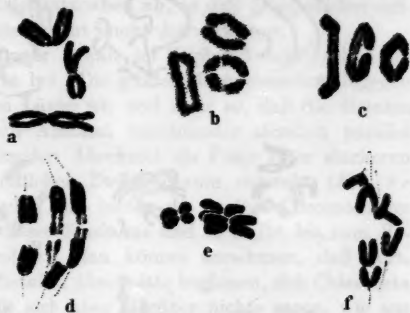


Abb. 7 a—f. *Thaumastoptera calceata*. a Spermatogonie, Prometaphase. b—f Spermatocyten. b Diakinese. c Metaphase. d Anaphase I, e Metaphase II und f Anaphase II in Seitenansicht. a, d, e KES. b, c, f KES. FEULGEN. Bei c <->.

### 3. *Tendipes (Chironomus) plumosus* MEIG.

Die Spermatogenese dieser Art, wie aller Chironomiden, ist durch die sehr geringe Größe der Chromosomen gekennzeichnet, die aber trotzdem klare Bilder ergeben. Es sind hier 4 Chromosomenpaare vorhanden, von denen eines bedeutend kleiner ist als die übrigen und sich in der meiotischen Prophase auch etwas anders als diese verhält. Da die zur Verfügung stehenden Präparate keine Spermatogonien enthielten — es kommen in den Hoden entweder nur Mitosen von Spermatogonien oder nur Reifeteilungen vor — können die spermatogonialen Chromosomen hier nicht beschrieben werden (vgl. unten *Glyptotendipes*). Der Chromosomensatz geht aber deutlich aus der Meta- und Anaphase II hervor (Abb. 8 p und q). Es sind 4 Chromosomen vorhanden, und zwar 3 V-förmige und ein kleines stäbchenförmiges. Sie sind, verglichen mit denen von *Dicranomyia trinitata*, bedeutend kleiner und dünner.

Im Pachytän, das als erstes klares Stadium der Meiose beobachtet werden kann, sind die Chromosomen in einem typischen Bukett angeordnet (Abb. 8 a). Die Enden der bügelförmigen Chromosomen liegen

um ein Polfeld gruppiert. Die Schleifen verlaufen glatt und fast regelmäßig U- oder hufeisenförmig, der Kernmembran innen anliegend oder benachbart. Es sind einwandfrei 4 Schleifen zu zählen, unter denen das kleine Chromosomenpaar sich von den übrigen durch größere Dicke und etwas stärkere Färbbarkeit unterscheidet. Die Chromomeren



Abb. 8 a—q. *Tendipes plumosus*. a—m Spermatocyten I, n—q Spermatocyten II. a Pachytän. b Übergang vom Pachytän ins Diplotän. c, d frühes, n—g spätes Diplotän. h, i Diakinese. k Prometaphase I. l Metaphase I. m frühe Anaphase I. n späte Interkinese. o Metaphase II (in Selten-), p in Polansicht. q Anaphase II. a KES. b—d, g, l—o, q KES, FEULGEN, ungefärbt nach HEIDENHAIN. e, f, h—k, p KES, B-A, FEULGEN. Bei m ←.

treten bei allen Chromosomen nur undeutlich hervor, und der Konjugationsspalt ist im Fadenverlauf nur hier und da deutlich wahrnehmbar. Am Ende des Pachytäns wird der Spalt deutlicher sichtbar — wahrscheinlich zeigen sich hierin schon die Anfänge des Diplotäns — und die Chromosomen sind stärker kontrahiert. Ihr vorher gleichmäßig bogenförmiger Verlauf ist jetzt durch stärkere Krümmungen und einzelne Knicungen an wenigen Stellen gestört, wodurch die Bukettanordnung aufgelöst wird (Abb. 8 b). Das kleine Chromosomenpaar ist nur noch leicht gekrümmt oder gerade gestreckt. Es zeigt jetzt schon eine Abstoßung der Partner am Spindelansatz (Abb. 8 b links oben). Indem die Enden und auch ein längerer distaler Abschnitt gepaart bleiben,

nimmt es eine spangenartige Gestalt an, die es bis zum Beginn der Diakinese beibehält. Im Laufe der fortschreitenden Verkürzung der großen Chromosomen erfolgt auch bei diesen eine Abstoßung der dem Spindelansatz unmittelbar benachbarten Abschnitte, die zugleich eine verstärkte Spiralisierung erfahren (Abb. 8 c und d). Abgesehen von einigen chromomerenartigen Verdickungen bleiben die Fäden glatt. Später stoßen sich auch die übrigen Chromosomenabschnitte in der gleichen Weise wie die spindelansatznahen ab, so daß Doppelfäden entstehen und die Spindelansätze nicht mehr hervortreten.

Das kleine Chromosomenpaar behält im Diplotän seine schon im Pachytän angenommene Form bei. Die großen Chromosomen hingegen stoßen sich in ihrer gesamten Länge ab, und zwar so, daß die distalen Abschnitte in einem gewissen Abstand voneinander ziemlich parallel verlaufen, während im proximalen Abschnitt als Folge einer stärkeren Abstoßung ein größerer rundlicher Zwischenraum entsteht (Abb. 8 e bis g). Dieses charakteristische Bild bieten die großen Chromosomen ausnahmslos in allen Zellen dieses Stadiums und es bleibt bis zum Beginn der Diakinese unverändert. Man könnte annehmen, daß dort, wo die parallel verlaufenden distalen Abschnitte beginnen, sich Chiasmata befänden. Mit Sicherheit läßt sich aber hierüber nichts sagen, wie aus der Diakinese hervorgeht.

Diese setzt mit einer verstärkten Abstoßung der Spindelansätze und einer weiteren Kontraktion der Fäden ein. Chiasmata treten jetzt deutlich hervor (Abb. 8 h und i). Am häufigsten sind die großen Chromosomen mit zwei, nicht viel weniger zahlreich aber solche mit nur einem Chiasma. Die Häufigkeit der Tetraden mit nur einem Chiasma führt zu der Frage, ob die als Chiasmata deutbaren Stellen in den diplotänen Stadien tatsächlich solche sind. Eine Antwort läßt sich vorläufig ohne Hilfsannahme nicht finden. Würden sich an den fraglichen Punkten der Diplotämfäden echte Chiasmata befinden, dann müßte man annehmen, daß einzelne nicht nur terminalisiert, sondern auch durch völliges Auseinanderweichen der Schenkel in der Diakinese aufgelöst werden. Aus der Gleichartigkeit des Diplotäns wäre zu folgern, daß die Chiasmata obligatorisch und auf bestimmte proximale Abschnitte beschränkt auftreten. Würde aber keine Terminalisation stattfinden, dann müßten sich an den fraglichen Punkten der Diplotämfäden nur dort echte Chiasmata befinden, wo sie auch in der Diakinese deutlich werden. Es lassen sich im Diplotän keine sicheren Anzeichen dafür finden, daß nur ein Teil der auffallenden Stellen echte Chiasmata sind.

Die Prometaphase, die zur Orientierung der Tetraden in der Spindel führt (Abb. 8 k), leitet unmittelbar zur Metaphase über (Abb. 8 l). Hinsichtlich der Chiasmata gilt hier das bei der Diakinese gesagte.

Für die Anaphase I liegen dieselben Verhältnisse vor wie bei *Dicranomyia trinitata*. Nach einem interkinetischen Ruhestadium kondensieren

sich die Chromosomen wieder und treten in Kreuzform, also mit abgespreizten Schenkeln, auf (Abb. 8 n).

Die Metaphase II gleicht ebenfalls der von *Dicranomyia*, nur ist das Bild einheitlicher als dort, da infolge ihrer Kürze und starken Kontraktion die Schenkel weniger beweglich sind (Abb. 8 o und p). Die Chromosomen sind an den Spindelansätzen ziemlich fest verbunden. Ihre Arme sind auseinandergespreizt soweit das bei ihrer Kontraktion möglich ist. Zuweilen sind sie dem entgegengesetzten Pol zugewandt. Die Anaphase II (Abb. 8 q) ist völlig normal. Die 2. Reifeteilung wird abgeschlossen mit der Bildung eines ruhestadiumartigen Spermatidenkernes.

#### 4. *Glyptotendipes barbipes* STGR.

Die Chromosomen sind von gleicher Zahl und Form wie die von *Tendipes plumosus*, aber etwas größer, was aus dem Vergleich der Metaphaseplatten II hervor-

geht (Abb. 9 i und 8 p). Auf Grund der Lage des Heterochromatins in den Speicheldrüsen-Chromosomen vermutete BAUER (1936) für diese und andere Arten, daß 1 stäbchenförmiges und 3 V-förmige Chromosomen im Satz vorlägen, was sich hier aus der Morphologie der Mitosechromosomen bestätigt.

In der prometaphasischen Äquatorialplatte der Spermatogonien unterscheiden sich die kleinen stäbchenförmigen Chromosomen im Kontraktionsgrad ebenso stark von den V-förmigen wie die von



Abb. 9 a—i. *Glyptotendipes barbipes*. a Spermatogonie, spät-prometaphasische Äquatorialplatte. b Pachytän. c frühes, d und e spätes Diplotän. f Diakinese. g Metaphase I, h frühe Anaphase I in Seitenansicht. i Metaphase II in Polansicht. a KES, FEULGEN. b—i KES. Bei g und h  $\longleftrightarrow$ .

*T. plumosus* (Abb. 9 a). Im Pachytän (Abb. 9 b) wurde kein deutliches Bukett gefunden. Die Fadenpaare verlaufen in unregelmäßigen Bögen, an manchen Stellen stärker gekrümmt, lassen keine einzelnen Chromomeren und nur an wenigen Stellen den Konjugationsspalt erkennen. Das kleine Chromosomenpaar fällt durch seine stärkere Kontraktion auf.

Außerdem zeigt es im frühen Pachytän eine auf terminaler Attraktion beruhende Ringbildung. Mit dem Ausgang des Pachytäns lösen sich seine Enden voneinander, es erscheint U-förmig und ist schließlich ziemlich gerade ausgestreckt. Währenddessen tritt bei allen Chromosomen ein deutlicher Spalt auf (Abb. 9 c), worin sich der Beginn des Diplotäns ankündigt. Bei den V-förmigen Chromosomen zeigt sich an den Spindelansätzen ein Auseinanderweichen und stärkere Kontraktion der proximalsten Abschnitte. Diese Erscheinung verschwindet, und die Partner weisen später in ihrem gesamten Verlauf einen gleichmäßig weiten Abstand und an allen Stellen die gleiche Dicke auf. In diesem Stadium sind nur einige wenige Chromosomenpaare an manchen Stellen der Doppelfäden zu sehen. Das Diplotän führt im weiteren Verlauf zu einer Abstoßung beider Partner in allen nicht durch Chiasmata verbundenen Teilen und zu einer weiteren Kondensation (Abb. 9 d und e). Die Chiasma-Orte treten erst in der Diakinese eindeutig hervor (Abb. 9 f). Es sind meist ein, seltener zwei Chiasmata pro Tetrade zu beobachten; die kleinen Chromosomen weisen stets nur ein, meist weit proximal gelegenes Chiasma auf. Die Metaphase (Abb. 9 g) und Anaphase I (Abb. 9 h) ebenso die Interkinese verlaufen wie bei *T. plumosus*, ebenso Metaphase (Abb. 9 i) und Anaphase II.

#### 5. *Phalacrocera replicata* L.

In der Metaphase der *Spermatogonien* sind 5 Chromosomenpaare zu sehen, deren eines verschieden große Partner aufweist (Abb. 10 a und b). Von den übrigen Paaren sind 2 V- und 2 stäbchenförmig. Die V-förmigen Chromosomen sind die größten des Satzes. Das größte von ihnen (1) besitzt einen submedianen Spindelansatz; die Längen seiner Schenkel verhalten sich ungefähr wie 2 : 3. Beim kleineren (2) der V-förmigen Paare liegt der Spindelansatz fast genau median. Bei den stäbchenförmigen Chromosomen läßt sich ebenfalls ein größeres (3) von einem kleineren Paar (4) unterscheiden.

Die Längenverhältnisse der Autosomen gehen besonders deutlich aus dem *Pachytän* hervor (Abb. 11 b), wo die proximalen Abschnitte Abstoßung zeigen. Hier läßt sich feststellen, daß die stäbchenförmig erscheinenden Autosomen in Wirklichkeit stark ungleichschenkelig sind, wobei ihre Schenkellängen sich etwa wie 1 : 5 oder 1 : 6 verhalten. Das große Heterochromosom  $H_1$  ist größer als das große stäbchenförmige Autosom (3) und zeigt als strukturelle Besonderheit ein verschmälertes Ende. In der Anaphase wird dieses Ende halsartig ausgedehnt und trägt ein Köpfchen (Abb. 13 g); es ist also ein subterminaler Spindelansatz vorhanden. Das kleine Heterochromosom  $H_2$  läßt in der Anaphase (Abb. 13 h) kein Köpfchen erkennen, wenn auch wohl angenommen werden muß, daß sein Spindelansatz nicht völlig terminal liegt. Weitere

strukturelle Merkmale an den Heterochromosomen werden bei der Darstellung der verschiedenen Stadien der Wachstumsphase beschrieben.

In den Spermatogonien zeigen die Heterochromosomen ein abweichendes Verhalten. Sie erfahren keine normale telophasische Umbildung, sondern erweisen sich als heterochromatisch. Im Ruhekern sind sie zu einem kompakten Chromatinkörper vereinigt. In der mittleren Prophase trennen sich die Heterochromosomen vom Nukleolus und voneinander und lockern sich etwas auf (Abb. 10 c). Sie heben sich durch ihren höheren Kondensationsgrad deutlich von den euchromatischen Autosomen ab. Diese ordnen sich in 4 unscharf begrenzte Schollen,

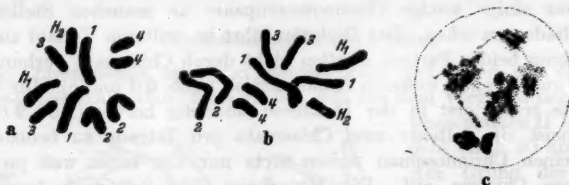


Abb. 10 a—c. *Phalacrocer replicata*. Spermatogonien. a, b frühe Metaphasen in Polansicht. c mittlere Prophase. KES, FEULGEN.

die in ihrer Größe den 4 verschiedenen Chromosomenpaaren entsprechen. Jede dieser Schollen entspricht einem Autosomenpaar. In der späten Prophase liegen die Heterochromosomen ungepaart und zufallsgemäß angeordnet und zeigen schon maximale Kontraktion, während sich die Autosomen inzwischen erst zu 4 Knäueln umgebildet haben und Relationsspiralen aufweisen. In der Metaphasenplatte treten die Chromosomen meist paarweise angeordnet auf (Abb. 10 a und b). Die Paarlage tritt bei den Heterochromosomen nie so ausgesprochen hervor wie bei den Autosomen. Anaphase und Telophase zeigen gegenüber *Dicranomyia trinitata* keine Besonderheiten.

Ein Leptotän ist auch bei *Phalacrocer* nicht beobachtet worden. Alle im Ruhestadium vor den postsynaptischen Vorgängen befindlichen Zellen enthalten gepaarte Fäden (Abb. 11 a). Das erste cytologisch beobachtbare Stadium der Wachstumsphase ist also das Pachytän. Die Chromosomenpaare sind wollfadenartig aufgelockert mit hintereinandergereihten Knoten und lassen ihre Doppelnatur nur selten erkennen. Ihre Paarigkeit ergibt sich daraus, daß in gequetschten Kernen außer den Heterochromosomen stets nur 4 Fäden zu zählen sind. Dem Nukleolus liegen die Heterochromosomen eng an. Im frühesten Pachytän erscheinen sie entweder getrennt oder verschmolzen als dichter, stark gefärbter Chromatinkörper. Wenn sie getrennt liegen, läßt das eine von ihnen oft eine Querlichtung erkennen, die das Chromosom in zwei ungleich große Abschnitte teilt. An den Autosomen treten später die Spindelansätze hervor, indem die an sie unmittelbar anschließenden Abschnitte



Abstoßung zeigen und verdickt erscheinen (Abb. 11 b und c). In manchen Fällen ist die Spindelansatzstelle als Unterbrechung zu erkennen (Abb. 11 c). Mit weiterem Verlauf schreitet die Kontraktion der Autosomen soweit fort, daß zweireihig angeordnete Sammelchromomeren hervortreten und der Konjugationsspalt überall sichtbar wird (Abb. 11 k). Die spindelansatznahen Abschnitte lassen sich nach wie vor von den übrigen



Abb. 11 a—m. *Phalacrocer replicata*. Spermatocyten I (a—c und k—m) und Heterochromosomen aus diesen herausgezeichnet (d—i). a Habitusbild eines Kernes im Pachytän. b, c an den Spindelansätzen einsetzendes Diplotän, d—i Heterochromosomenpaare aus einzelnen Kernen im frühesten (d), mittleren (e—h) und spätem (i) Diplotän. k spätes Diplotän. l Übergang vom Diplotän in die Diakinese. m Diakinese. a, b KES. c—m B-A, FEULGEN.

Abschnitten unterscheiden. Die Heterochromosomen unterliegen im Laufe dieser Veränderungen einem Formwechsel, der von dem der Autosomen wesentlich verschieden ist. Im Verlaufe der Auflösung des Nukleolus werden sie fadenförmig, wickeln sich auf und liegen unregelmäßig gewunden auf der Oberfläche des Restnukleolus (Abb. 11 b). Gleichzeitig mit dem völligen Verschwinden des Nukleolus kontrahieren sich die Heterochromosomen wieder. Sie sind in Abb. 11 d—i aus mehreren Kernen herausgezeichnet worden, um gewisse konstante Strukturen, die während der Stadien der größten Streckung und erneuten Kontraktion

wiederkehren, zu verdeutlichen. Eines der Chromosomen — wie sich weiter unten zeigt, handelt es sich um das größere der Heterochromosomen,  $H_1$  — weist eine Querlichtung auf (Abb. 11 d unten), die es in zwei ungleiche Abschnitte teilt. In einem etwas späteren Stadium erkennt man, daß dicht neben der beschriebenen noch eine feine Einschnürung zu sehen ist und zwischen beiden ein sehr kleines, rundes Chromosomenstück (Abb. 11 e). Es erklären sich danach leicht die in besonders stark gequetschten Kernen dieses Stadiums auftretenden Bilder (Abb. 11 g und f). Hier liegt der kleine runde Abschnitt anscheinend außerhalb des Chromosomenverbandes; aus Stellung und Gestalt der voneinander abgerückten großen Abschnitte kann man schließen, daß sie mit dem kleinen runden Abschnitt durch einen unter der Sichtbarkeitsgrenze liegenden Faden verbunden sind. Das andere Heterochromosom,  $H_2$ , läßt ebenfalls eine Einschnürung erkennen. Sie ist selbst noch im kondensierten Zustand des Chromosoms in der Diakinese angedeutet (Abb. 11 m); diejenige von  $H_2$  macht sich sogar oft noch in der Meta- (Abb. 12 d) und Anaphase I (Abb. 12 f) bemerkbar. Es sind auch noch andere, aber weniger stark hervortretende Stellen im Verlauf der kleinen Chromosomen vorhanden, z. B. im großen Abschnitt von  $H_1$  (Abb. 11 h). An den gequetschten Heterochromosomen läßt sich erkennen, daß sie aus zwei Chromatiden bestehen, die sich spiralisieren und gleichzeitig eine Relationsspirale ausbilden (Abb. 11 g und f). Mit der fortschreitenden Kondensation verschwinden die feineren Strukturen (Abb. 11 h und i), nur die Haupteinschnürungen, besonders die von  $H_1$ , sind noch lange sichtbar.

Mit dem Ende des Diplotäns (Abb. 11 l) erfolgt auch an den vom Spindelansatz entfernter liegenden Abschnitten die Partnerabstoßung der Autosomen. Die Sammelchromomerenpaare lockern sich auf, der Äquationsspalt, der vorübergehend zwischen den Geschwister-Chromomeren auftritt, verschwindet und in der Diakinese nehmen die Autosomen ein dick wollfadenartiges Aussehen an. Die Chiasmata treten trotzdem ziemlich deutlich hervor. Während die Heterochromosomen stark kondensiert bleiben, verdichten sich die Autosomen erst wieder am Ende der Diakinese, wobei ihre Spindelansätze maximalen Abstand voneinander erreichen. In der Prometaphase orientieren sich die Tetraden in der sich bildenden Spindel (Abb. 12 a) und ordnen sich in die Äquatorialplatte ein. Die Heterochromosomen sind seit dem Diplotän nicht selten weit auseinander geraten und beteiligen sich an der Orientierung zunächst nicht. Erst im Laufe der Metaphase I finden sie sich in der Nähe der Äquatorialplatte, um sich schließlich getrennt in diese einzuordnen (Abb. 12 b und c). Die Tetraden der V-förmigen Chromosomen weisen ein oder zwei Chiasmata auf, die der stabförmigen meist nur eins. Der Äquationsspalt ist noch deutlicher als bei den Tetraden von *Dicranomyia trinitata*. Bei den Heterochromosomen tritt er jetzt ebenfalls deutlich hervor.

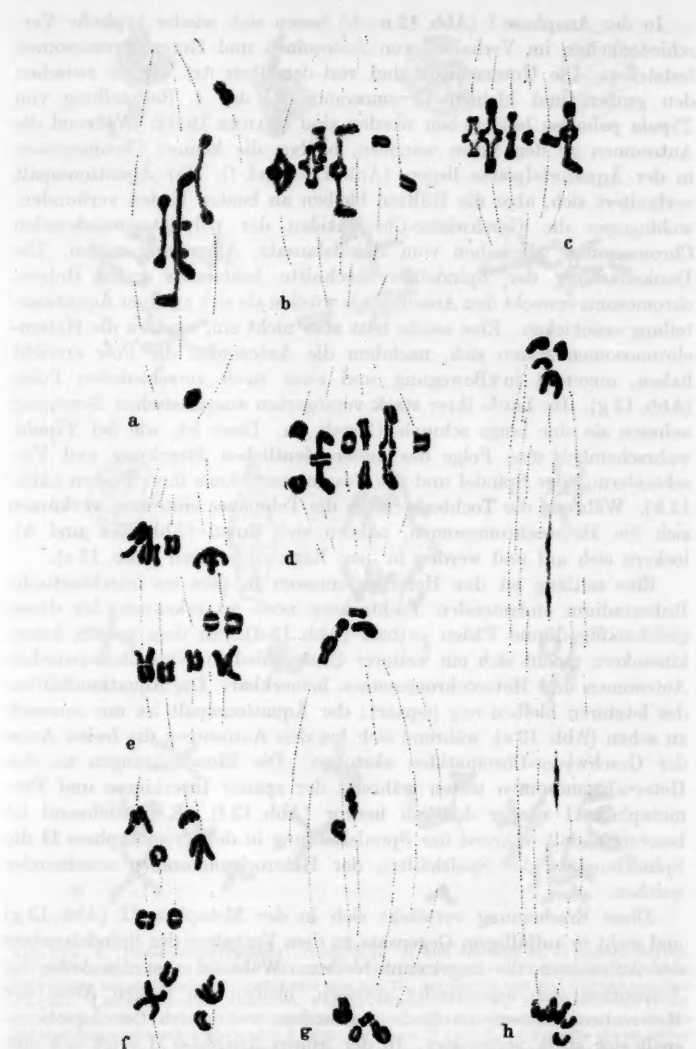


Abb. 12 a—h. *Phalacrocerca replicata*. Stadien aus der 1. Reifeteilung, sämtlich in Seitenansicht. a Prometaphase. b—d Metaphase. e, f frühe, g, h späte Anaphase. Alles KES, B-A, FEULGEN.

In der Anaphase I (Abb. 12 n—h) lassen sich wieder typische Verschiedenheiten im Verhalten von Autosomen und Heterochromosomen feststellen. Die Unterschiede sind von derselben Art wie sie zwischen den großen und kleinen Chromosomen in der 1. Reifeteilung von *Tipula paludosa* beschrieben worden sind (BAUER 1931). Während die Autosomen zu den Polen wandern, bleiben die kleinen Chromosomen in der Äquatorialplatte liegen (Abb. 12 e und f). Ihr Äquationsspalt verbreitert sich, aber die Hälften bleiben an beiden Enden verbunden, wohingegen die Geschwister-Chromatiden der polwärts wandernden Chromosomen, abgesehen vom Spindelansatz, Abstoßung zeigen. Die Dunkelfärbung der Spindelfaserabschnitte beiderseits jedes Heterochromosoms erweckt den Anschein als würden sie sich zu einer Äquationsteilung anschicken. Eine solche tritt aber nicht ein, sondern die Heterochromosomen setzen sich, nachdem die Autosomen die Pole erreicht haben, ungeteilt in Bewegung und zwar nach verschiedenen Polen (Abb. 12 g). Im Laufe ihrer stark verzögerten anaphasischen Bewegung nehmen sie eine lange schmale Gestalt an. Diese ist, wie bei *Tipula*, wahrscheinlich eine Folge der außerordentlichen Streckung und Versmälnerung der Spindel und des Zusammenrückens ihrer Fasern (Abb. 12 h). Während die Tochterkerne in die Telophase eintreten, verkürzen sich die Heterochromosomen, nähern sich ihnen (Abb. 13 a und b), lockern sich auf und werden in dem Kern einbezogen (Abb. 13 c).

Eine zeitlang ist das Heterochromosom in dem ins interkinetische Ruhestadium eintretenden Tochterkern noch zu erkennen, bis dieser gleichmäßig dünne Fäden enthält (Abb. 13 d). In dem späten Interkineseern macht sich ein weiterer Unterschied im Verhalten zwischen Autosomen und Heterochromosomen bemerkbar. Die Äquationshälften des letzteren bleiben eng gepaart; der Äquationsspalt ist nur schwach zu sehen (Abb. 13 e), während sich bei den Autosomen die freien Arme der Geschwister-Chromatiden abstoßen. Die Einschnürungen an den Heterochromosomen treten während der späten Interkinese und Prometaphase II wieder deutlich hervor (Abb. 13 f). Kennzeichnend ist besonders, daß während der Spindelbildung in der Prometaphase II die Spindelansätze der Spalthälften der Heterochromosomen auseinander weichen.

Diese Erscheinung verstärkt sich in der Metaphase II (Abb. 13 g) und steht in auffälligem Gegensatz zu dem Verhalten der Spindelansätze der Autosomen, die ungetrennt bleiben. Während aber die Arme der Autosomen sich auseinander spreizen, bleiben die langen Arme der Heterochromosomen am Ende verbunden, wenngleich der Äquationsspalt sich stark verbreitert. In der frühen Anaphase II zeigt sich eine Nachwirkung dieses Verhaltens insofern, als die distalen Abschnitte des Heterochromosoms die parallele Aneinanderlagerung beibehalten, bis die anaphasische Bewegung sie trennt (Abb. 13 h). Die freien Arme der

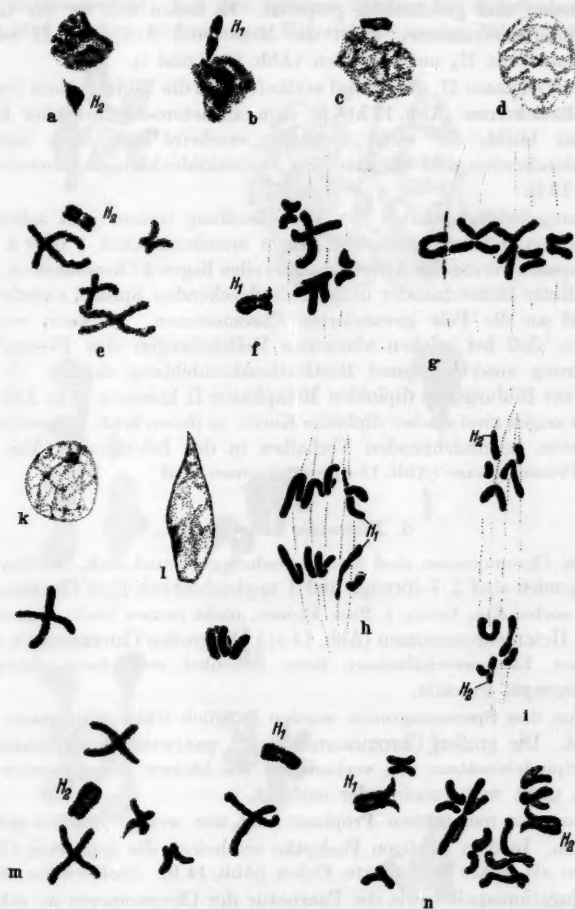


Abb. 13 a—n. *Phalacrocer replicata*. , Normale (a—l) und diploide (m, n) Spermatocyten. k, l Spermatidenkerne. a, b zwei Tochterkerne in der Telophase I (sie sind aus der natürlichen Entfernung nebeneinander gebracht), der eine mit  $H_1$ , der andere mit  $H_2$ . c etwas späteres Stadium. d interkinetischer Ruhekern. e späte Interkinese mit  $H_2$ . f Prometaphase II mit  $H_1$ . g Metaphase II mit  $H_1$  (Spindelansätze der Autosomen miteinander verbunden, die des Heterochromosoms sich abstoßend!). h frühe Anaphase II (mit  $H_1$ ), i dasselbe etwas später (mit  $H_1$ ). k Spermatiden-Ruhekern. l dasselbe etwas später im bereits gestreckten Zustand. m diploide Spermatocyte in der Interkinese ( $H_1$  und  $H_2$ , beide in der Zelle enthalten): sie zeichnen sich vor den Autosomen aus durch das Nichtauseinanderstreizen der Schenkel. n dasselbe in der Prometaphase II ( $H_1$  und  $H_2$  zeigen als weitere Abweichung vom Autosomenverhalten Abstoßung der Spindelansätze ihrer Spaltehälften). a—c, h—l KES. H-A, FRULGKN. d—g, m, n KES.

Autosomen sind gleichmäßig gespreizt. Es lassen sich an der Gestalt der Heterochromosomen meist die Meta- und Anaphasen II mit  $H_1$  von denen mit  $H_2$  unterscheiden (Abb. 13 h und i).

Der Telophase II, die normal verläuft, folgt die Bildung eines Spermatiden-Ruhekernes (Abb. 13 k), in dem ein heterochromatischer Körper sichtbar bleibt, der meist zweiteilig erscheint und auch noch im sich streckenden und zuspitzenden Spermatidenkern nachzuweisen ist (Abb. 13 l).

Unregelmäßigkeiten in der 1. Reifeteilung treten nicht selten auf. Neben den Heterochromosomen zeigen manchmal auch 1 oder 2 Autosomenpaare verzögerte Anaphase. Zuweilen liegen 4 Chromosomen wie in einer Kette hintereinander in der sich streckenden Spindel zwischen den normal an die Pole gewanderten Chromosomen. Es kann vermutet werden, daß bei solchen abnormen Reifeteilungen eine Plasmadurchschnürung unterbleibt und Restitutionskernbildung eintritt. Es kann dann zur Bildung von diploiden Metaphasen II kommen. Die Abb. 13 m und n zeigen zwei solcher diploider Kerne, in denen beide Heterochromen an ihrem kennzeichnenden Verhalten in der Interkinese (Abb. 13 m) und Prometaphase (Abb. 13 n) zu erkennen sind.

#### 6. *Dictenidia bimaculata* L.

Die Chromosomen sind hier besonders groß und dick. In den Spermatogonien sind 2 V-förmige und 1 ungleichschenkeliges Chromosomenpaar vorhanden, ferner 1 Paar kleiner, nicht immer leicht unterscheidbarer Heterochromosomen (Abb. 14 a). Die großen Chromosomen ähneln in den Längenverhältnissen ihrer Schenkel weitgehend denen von *Dicranomyia trinotata*.

Von den Spermatogonien wurden lediglich frühe Metaphasen beobachtet. Die großen Chromosomen liegen paarweise nebeneinander, an den Spindelansätzen eng verbunden. Die kleinen Chromosomen liegen meist nicht weit voneinander entfernt.

Von der meiotischen Prophase sind nur wenige Stadien gefunden worden. In dem häufigen Pachytän erscheinen die gepaarten Chromosomen als locker konturierte Fäden (Abb. 14 b). Stellenweise sind der Konjugationsspalt sowie die Paarnatur der Chromomeren zu erkennen. Es sind zwei Nukleolen oder ein einziger großer vorhanden, der wohl aus der Verschmelzung zweier kleinerer hervorgegangen ist. An ihm bzw. einem der getrennten Nukleolen liegen die kleinen Chromosomen, manchmal aber auch weit abseits von ihm. Diese abseitige Lage der kleinen Chromosomen ist kaum als Artefakt anzusehen, da diese Beobachtungen häufig und an intakten Kernen gemacht wurden. Sie sind oft zu einem einzigen Chromatinklumpen verschmolzen. Wenn sie getrennt nebeneinander liegen, sind sie durch geringe Größenunterschiede



meist unterscheidbar. Von den späteren Stadien der meiotischen Prophase sind in dem vorhandenen Material zu wenige Bilder gefunden

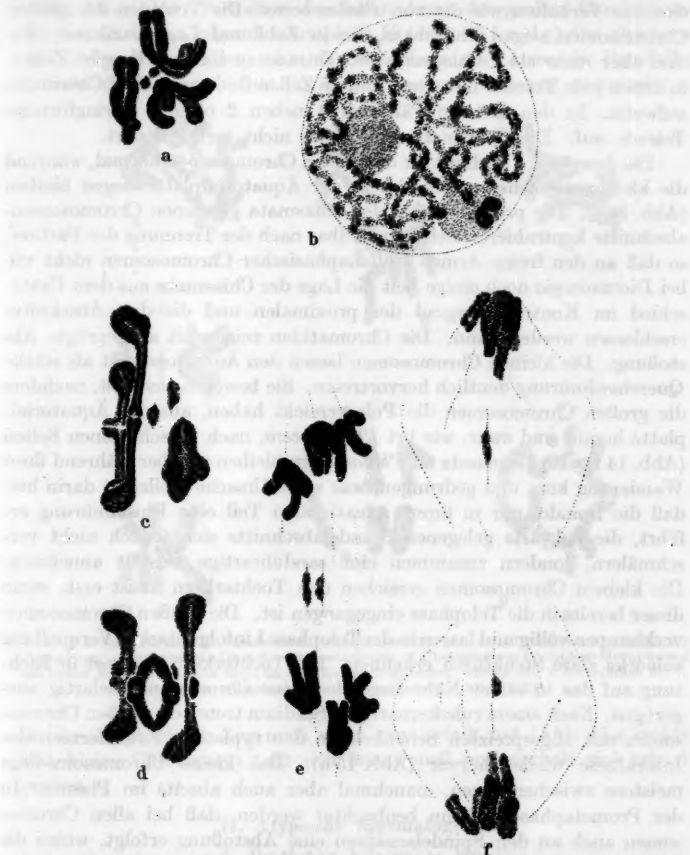


Abb. 14 a—f. *Dictenidia bimaculata*. a Spermatogonie in Prometaphase. b Pachytänkern. c späte Prometaphase I. d Metaphase I. e mittlere Anaphase I, die kleinen Chromosomen liegen noch unbeteiligt in der Äquatorialplatte. f späte Anaphase I, die kleinen Chromosomen auf der Wanderung zu entgegengesetzten Polen. a KES, B-A, FEULGEN. b—f KES.

worden, als daß näher auf sie eingegangen werden könnte. Anzeichen für irgendwelche Besonderheiten liegen aber keine vor.

Aus einer Prometaphase, in der die ausgebildeten Tetraden parallel zur Spindelachse orientiert werden, treten diese in das Stadium der

Metaphase I ein (Abb. 14 c und d). Die kleinen Chromosomen ordnen sich mit Verzögerung in die Äquatorialplatte ein und zeigen in allem dasselbe Verhalten wie die von *Phalacrocera*. Die Tetraden der großen Chromosomen zeigen Chiasmata, die in Zahl und Lage variieren. Nie sind aber mehr als 2 Chiasmata pro Tetrade zu finden. Es gibt Zellen, in denen jede Tetrade nur eines, andere Zellen in denen jede 2 Chiasmata aufweist. In den meisten Fällen tritt neben 2 offenen 1 ringförmige Tetrade auf. Die Chiasmata sind meist nicht terminalisiert.

Die Anaphase I verläuft für die großen Chromosomen normal, während die kleinen zunächst unbeteiligt in der Äquatorialplatte liegen bleiben (Abb. 14 e). Die proximalwärts der Chiasmata gelegenen Chromosomenabschnitte kontrahieren sich unmittelbar nach der Trennung der Partner, so daß an den freien Armen früh-anaphasischer Chromosomen nicht wie bei *Dicranomyia* noch einige Zeit die Lage der Chiasmata aus dem Unterschied im Kontraktionsgrad der proximalen und distalen Abschnitte erschlossen werden kann. Die Chromatiden zeigen oft ausgeprägte Abstoßung. Die kleinen Chromosomen lassen den Äquationsspalt als starke Quereinschnürung deutlich hervortreten. Sie bewegen sich erst, nachdem die großen Chromosomen die Pole erreicht haben, aus der Äquatorialplatte heraus und zwar, wie bei *Phalacrocera*, nach verschiedenen Seiten (Abb. 14 f). Im Gegensatz zu *Phalacrocera* bleiben sie aber während ihrer Wanderung kurz und gedrunken, was seine Ursache vielleicht darin hat, daß die Spindel nur in ihrem äquatorialen Teil eine Einschnürung erfährt, die polwärts gelegenen Spindelabschnitte sich jedoch nicht verschmälern, sondern zusammen eine sanduhrartige Gestalt annehmen. Die kleinen Chromosomen erreichen den Tochterkern meist erst, wenn dieser bereits in die Telophase eingegangen ist. Die großen Chromosomen verklumpen völlig und lassen in der Telophase I infolge starker Verquellung keinerlei klare Strukturen erkennen. Der Tochterkern ist meist in Richtung auf das in seiner Nähe liegende kleine Chromosom stielartig ausgezogen. Nach einem ruhekernartigen Stadium treten die großen Chromosomen mit abgespreizten Schenkeln in den typischen Kreuzformen der Interkinese wieder hervor (Abb. 15 a). Das kleine Chromosom liegt meistens zwischen ihnen, manchmal aber auch abseits im Plasma. In der Prometaphase II kann beobachtet werden, daß bei allen Chromosomen auch an den Spindelansätzen eine Abstoßung erfolgt, wobei die Abstoßungsrichtung bei allen Chromosomen dieselbe ist. Bei den großen Chromosomen verbindet dann ein feiner Faden die beiden auseinander-gewichenen Spindelansätze (Abb. 15 b). Da von *Dictenidia* keine geeigneten Schnittpräparate vorhanden waren, kann hier nicht entschieden werden, ob diese Erscheinungen vielleicht nur Artefakte darstellen. — Hierauf erfolgt die Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialplatte, wobei die Chromatiden ein auffälliges Paarungsbstreben zeigen und ihre Schenkel sich dicht aneinander legen (Abb. 15 c). Danach

setzt erneut eine an den Chromatidenenden beginnende Abstoßung ein (Abb. 15 d), die zu dem charakteristischen Bild der Metaphase II führt (Abb. 15 e). Das Verhalten der freien Arme der großen Chromosomen ist hier wie in der folgenden Anaphase II (Abb. 15 f und g) das gleiche wie bei *Dicranomyia*. Dort, wo in der Metaphase zwei Arme die Parallellage beibehalten hatten, haften sie in der Anaphase so lange aneinander wie

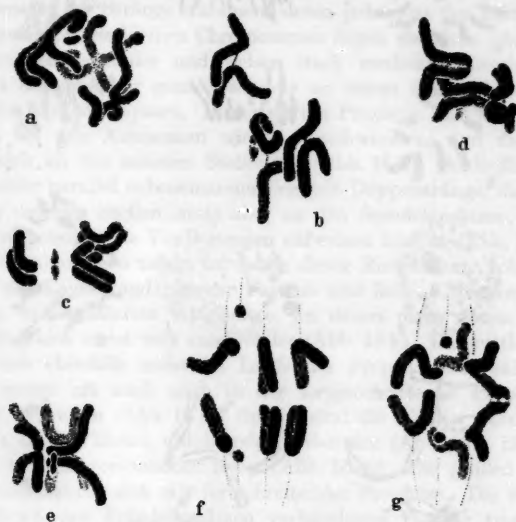


Abb. 15 a—g. *Dictenidia binaculata*. Spermatocyten II. a Interkinese, b frühe Prometaphase, c Paarungsstadium der Prometaphase, d Übergang zur typischen Metaphase II: die freien Schenkel stoßen sich, an den Enden beginnend, wieder ab, e Metaphase II, f, g frühe Anaphase II in Seitenansicht. Alles KES.

sie der anaphasische Zug noch nicht ganz erfaßt hat (Abb. 15 g rechts). Das kleine Chromosom teilt sich äquationell und verhält sich wie die großen.

## II. Atypische Spermatogenese.

### 1. *Penthetria holosericea* MEIG.

In Ermangelung von Präparaten mit Spermatogonien sind der Chromosomensatz und die Mitose an Follikelzellen des Ovars untersucht worden. In der Metaphaseplatte sind 5 Chromosomenpaare in der für Dipteren kennzeichnenden Anordnung zu sehen (Abb. 16 a und b). Man kann neben einem kleinen Paar 4 große Chromosomenpaare feststellen. 2 Paare der großen sind V-förmig, ungleichschenkelig und in der Größe nicht unterscheidbar. Die 2 anderen Paare sind stabförmig

und etwas verschieden lang. Die kleinen Chromosomen erweisen sich bei der Untersuchung des Mitosezyklus als Heterochromosomen. In den Follikelzellen lassen sich keinerlei Größenunterschiede zwischen ihnen feststellen. Ihre Form geht besser aus der Anaphase der Mitose

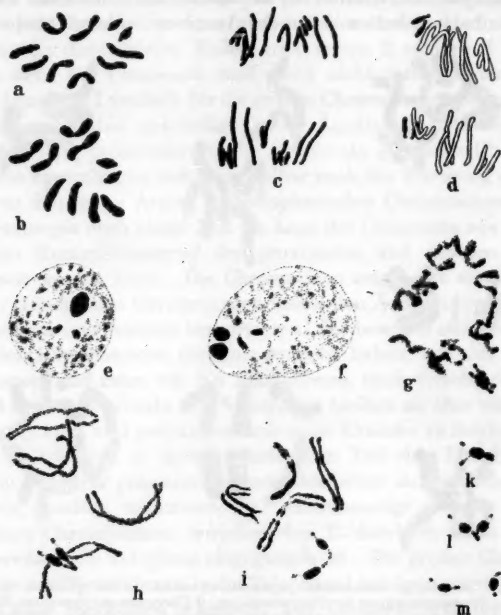


Abb. 16 a—m. *Penthetria holosericea*. Mitose, Follikelzelle. a, b Metaphaseplatten in Polansicht. c, d Anaphase in Seitenansicht (bei d die Heterochromosomen schwarz, die Autosomen nur umrandet). e, f Ruhekerne; bei e ein großer, bei f zwei große Chromatinkörper, die die bei e verschmolzenen, bei f getrennten Heterochromosomen darstellen; in beiden Kernen noch je 2 kleinere heterochromatische Körper sichtbar, die den stabförmigen Chromosomen angehören. g mittlere Prophase. h, i späte Prophase. k—m aus gleichen Stadien herausgezeichnete Heterochromosomen im Verlaufe ihrer Abstoßung. Alles KES, FEULGEN.

hervor (Abb. 16 c und d), in der auch die Gestalt der übrigen Chromosomen klar hervortritt. Hier wird deutlich, daß die Heterochromosomen stark ungleichschenkelig, fast stabförmig sind und der kleine Schenkel als proximales Köpfchen erscheint. Bei der Bildung des Ruhekerns bleiben die kleinen Chromosomen kompakt und sitzen schließlich als getrennte oder zu einem Klumpen verschmolzene Chromatinkörper an dem achromatischen Nukleolus (Abb. 16 e und f); der Nukleolus ist infolge FEULGEN-Färbung nicht sichtbar, seine Lage ist aber durch die

große Lichtung angezeigt.) Ferner sind noch zwei kleine heterochromatische Stücke am Nukleolus zu beobachten, die, wie sich bei der Betrachtung des Pachytäns zeigen wird, je einem anscheinend heterochromatischen Ende der stabförmigen Chromosomen entsprechen. In der Prophase treten die großen Chromosomen als 4 stark tordierte Stränge hervor (Abb. 16 g). An dem streckenweise sichtbaren Paarungsspalt läßt sich die Paarnatur der Stränge erkennen, deren jeder aus den beiden Homologen besteht. Die kleinen Chromosomen liegen ebenfalls, aber weniger gestreckt nebeneinander und weisen stark verdickte Mittelabschnitte auf. An diesem, aber ganz besonders an einem ihrer schmalen Endabschnitte sind sie gepaart. In der späten Prophase sind die Relationsspiralen bei den Autosomen wieder verschwunden, und die Partner stoßen sich an den meisten Stellen ab (Abb. 16 h). Schließlich bilden sie ungefähr parallel nebeneinander liegende Doppelstränge, die sich nur noch an wenigen Stellen, stets aber an den Spindelansätzen, berühren und korrespondierende Verdickungen aufweisen können (Abb. 16 i). Die kleinen Chromosomen zeigen im Laufe dieser Entwicklung keine Form-, sondern nur Lageveränderungen. Fast nie sind ihre „Köpfchen“ und die halsartig verschmälerten Abschnitte, an denen diese sitzen, gepaart; sie spreizen sich meist weit auseinander (Abb. 16 k). Die mittleren Teile stoßen sich ebenfalls meist im Laufe der Prophase ab, während die Endabschnitte oft auch noch in der fortgeschrittenen Prophase eine Paarung aufweisen (Abb. 16 l). Später sind die kleinen Chromosomen nur noch an den Enden miteinander verbunden (Abb. 16 i), bis sie sich schließlich ganz voneinander lösen (Abb. 16 m). Die großen Chromosomen kontrahieren sich mit fortschreitender Prophase. Die schließlich nur noch an den Spindelansätzen verbundenen Partner trennen sich voneinander, womit das Stadium der Metaphase wieder erreicht ist.

Die *meiotische Prophase* in den Spermatocyten nimmt in ihren mittleren und späten Entwicklungsabschnitten einen von allen oben beschriebenen Formen abweichenden Verlauf. Das früheste der beobachteten Stadien ist das Pachytän (Abb. 17 a). Es gleicht im Habitus dem von *Dictenidia*. 4 Pachytän-Chromosomen sind vorhanden und 1 Nukleolus, dem die beiden kleinen Chromosomen als kontrahierte Chromatinkörper einzeln oder verschmolzen ansitzen. Am Nukleolus sind ferner 2 Chromosomen mit einem Ende befestigt, das stärker gefärbt ist. Auf Grund struktureller Merkmale, die im späteren Verlauf sichtbar werden, erweisen sie sich als die stabförmigen Chromosomen, und es kann vermutet werden, daß sie mit ihrem kurzen Schenkel dem Nukleolus angeheftet sind. Alle Pachytän-Chromosomen zeigen durchgehend den Konjugationsspalt und zahlreiche Chromomerenpaare in ihrem Verlauf. Der Nukleolus verliert mit fortschreitender Kernentwicklung an Umfang. Die kleinen Chromosomen liegen von ihm losgelöst im Kernraum (Abb. 17 b). An ihnen wird der kleine köpfchenartige Schenkel deutlich,

der für die Anaphase der Mitose oben beschrieben wurde. Während der Auflösung des Nukleolus kontrahieren sich die großen Chromosomen immer mehr und lassen den Konjugationsspalt noch deutlicher hervortreten (Abb. 17 c). An einem von ihnen ist, ungefähr median, eine auffällige Lücke zu sehen, die dem Spindelansatz entspricht. Ein anderes

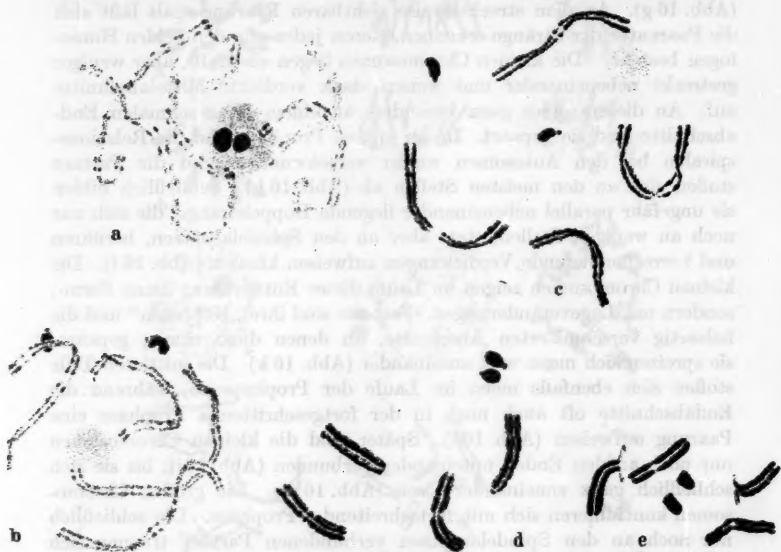


Abb. 17 a—e. *Penthetria holosericea*. Spermatocyten. Stadien der meiotischen Prophase. a spätes Pachytän; Heterochromosomen als Chromatinkörper am Nukleolus sitzend (das kleinere ist blässer wiedergegeben, weil es an der Unterseite des Nukleolus liegt); zwei Chromosomen mit einem heterochromatischen Ende gleichfalls dem Nukleolus angeheftet. b fortgeschrittenes Stadium, Nukleolus in Auflösung begriffen, Heterochromosomen losgelöst und strukturiert. c noch späteres Stadium mit stärker kontrahierten Chromosomen und einem Rest des Nukleolus. d spätprophasches Stadium der Meiose, in dem eine weitere Kontraktion der Chromosomen erfolgt ist und ihr 4-Strang-Zustand hervortritt. e spätes prophasches Stadium der Meiose, Übergang zur Prometaphase; Abstoßung an den Spindelansätzen der stabförmigen Chromosomen besonders deutlich. Alles KES. Bei c →.

Chromosom zeigt in seinem Mittelabschnitt zwei Einschnürungen, zwischen denen in jedem Partner ein runder Chromosomenabschnitt liegt. Eine der Einschnürungen ist eine sekundäre, die andere entspricht dem Spindelansatz. Diese beiden strukturell unterscheidbaren Fadenpaare sind die der V-förmigen Chromosomen; sie lassen sich gut von denen der stabförmigen unterscheiden, die keine Einschnürungen aufweisen. Nach weiterer Kondensierung schließt sich ein Stadium an, in dem in jedem Partner ein Spalt sichtbar wird (Abb. 17 d), also ein Vierstrangstadium, das wohl schon eher begonnen hat, sich aber nicht nachweisen ließ. Es erfolgt hier nun keinerlei Abstoßung der Chromo-



somenabschnitte. Auch an den Spindelansätzen bleiben die Partner vereinigt. Das zeigt sich besonders eindeutig an dem stabförmigen Chromosomenpaar mit dem oben beschriebenen köpfchenartigen Schenkel (Abb. 17 d rechts). Wären die Spindelansätze auf diesem Vierstrangstadium der Chromosomenpaare auseinander gewichen, dann müßte das Köpfchen in 2 voneinander getrennten Teilen erscheinen. Statt dessen läßt sich zwischen den beiden Partnerköpfchen noch nicht einmal immer der Konjugationsspalt erkennen, was anscheinend seinen Grund in der Kürze der Köpfchen und ihrer unmittelbaren Nachbarschaft mit den eng verbundenen Spindelansätzen hat. Erst in einem späteren, der Metaphase vorausgehenden Stadium, das zeitlich etwa dem der Diakinese bei typischen Meiosen vergleichbar ist — das Diplotän in seiner normalen Erscheinungsweise fällt hier also völlig aus — tritt eine Abstoßung der Spindelansatzstellen ein, die an den stabförmigen Chromosomenpaaren am deutlichsten in Erscheinung tritt (Abb. 17 e). Die vordem eng verbundenen köpfchenartigen kleinen Schenkel am Spindelansatz des einen stabförmigen Chromosomenpaares sind jetzt weit voneinander getrennt (in der Abb. rechts). Auch das andere stabförmige Chromosomenpaar, das kein so großes Köpfchen am Ansatz trägt, läßt deutlich die Abstoßung der Spindelansätze erkennen (in der Abb. links). An den kleinen Chromosomen macht sich ebenfalls eine, wenn auch geringe, Gestaltsveränderung bemerkbar. Das eine ihrer Enden, das vordem ein „Köpfchen“ trug, erscheint jetzt verbreitert und quer abgesetzt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die hier subterminal gelegenen Spindelansätze eine Abstoßung zeigen. Es würde sich hier dann jedoch um eine äquationelle Spaltung handeln. Am Spindelansatz der V-förmigen Paare erscheint zwischen den Partnern ein größerer Zwischenraum. Die Abstoßungsrichtungen bei den beiden stabförmigen Chromosomen scheinen, wenigstens nach den Befunden an Quetschpräparaten, verschiedene zu sein und erst später als Folge einer prometaphasischen Orientierung übereinzustimmen. In den vorliegenden Schnittpräparaten waren die betreffenden Stadien nicht vorhanden, weshalb sich hier keine sicheren Angaben machen lassen. Die noch ziemlich gestreckten Gemini ordnen sich in die Äquatorialplatte der Metaphase I ein (Abb. 18 a). Dabei beginnt die Orientierung an den Spindelansätzen, wie es sich nach der Gestalt der stabförmigen Chromosomen in der Abbildung vermuten läßt. Sie erreichen erst jetzt ihre maximale Kontraktion und haben dann ein gedrungenes Aussehen. Die Homologen sind in ihrer gesamten Länge eng gepaart, lassen aber den Konjugationsspalt deutlich hervortreten. Der Äquationsspalt ist nicht mehr sichtbar, aber die Partner erscheinen im Querschnitt bei Endansicht breit oval. An den V-förmigen Chromosomen tritt keine Abstoßung ihrer Spindelansätze ein. Diese zeigen sich durch eine starke Querein schnürung an, so daß diese Gemini in Seitenansicht vierteilig erscheinen. Die stabförmigen Chromosomen sind von ihnen durch die Lage ihres Spindelansatzes auffallend unterschieden. Es tritt im Verlaufe

ihrer Schenkel keine Querschnürung auf, dagegen die schon oben beschriebene deutliche Abstoßung an ihren Enden. Hier fallen besonders die kleinen Endköpfchen auf, und es läßt sich feststellen, daß bei beiden stabförmigen Chromosomen solche vorhanden sind. Der Abstand der Spindelansätze bei den Gemini der stabförmigen erscheint größer als es



Abb. 18 a—h. *Penthetria holosericea*. Spermatocyten in der 1. Reifeteilung. a Metaphase I Das linke stabförmige Chromosom liegt etwas schräg zur Bildebene; das größere der Heterochromosomen ist noch nicht ganz in die Äquatorialplatte eingerückt. b frühe, c mittlere, d frühe Anaphase I, e, f dasselbe, die kleinen Chromosomen auf dem Wege zu den Polen. g frühe und h späte Telophase I (kappenartige Anordnung des Chromatins). Alles KES.

bei den V-förmigen ihrem Aussehen nach zu schließen ist. Vielleicht findet dieses unterschiedliche Verhalten seine Begründung darin, daß die Spindelansätze der stabförmigen Chromosomen beim Auseinanderstreben den Widerstand von nur einem, bei den V-förmigen den von zwei Schenkelpaaren zu überwinden haben. Die Einordnung der kleinen Chromosomen in die Äquatorialplatte geht mit derselben Verzögerung vor sich, wie sie auch für die kleinen Chromosomen von *Phalacrodera* und *Dictenidia* kennzeichnend ist. Ein Köpfchen tritt bei ihnen nicht

hervor. Sie lassen jegliche Orientierung zueinander vermissen und liegen in der Metaphase in von Fall zu Fall ganz verschiedenen Abständen voneinander. Die auffälligsten Merkmale der Gemini sind das Fehlen jeglicher Anzeichen für das Vorhandensein von Chiasmata und die auch jetzt noch nicht eingetretene Abstoßung der Partner. Das Auseinanderweichen der Spindelansätze führt bei weitem nicht zu solchen Abständen, wie sie zwischen den Spindelansätzen der Chiasmata besitzenden Tetraden typischer Meiosen erreicht werden.

Die Anaphase I setzt für alle großen Chromosomen gleichzeitig ein (Abb. 18 b). In allen beobachteten Anaphasen sind Unregelmäßigkeiten in der Lage der Tetraden bzw. sich trennender Partner in der Äquatorialebene vorhanden, wie sie auch schon in vielen Metaphasen I auftreten, wo sich die Tetraden manchmal in verschiedener Höhe, in ihrer Längserstreckung aber stets parallel zur Äquatorialplatte einstellen. Es ist in Ermangelung von Schnittpräparaten hier nicht zu entscheiden, ob diese Abweichungen real sind oder durch die Technik (Quetschpräparate) hervorgerufen wurden. Bei der Trennung der Partner bleiben diese so lange an den distalen Abschnitten zusammen als der anaphasische Zug hier noch nicht wirksam wird. Im Gegensatz zu dem Verhalten in der typischen Meiose bleiben die Chromatiden der an die Pole wandernden Chromosomen fest miteinander verbunden. Die kleinen Chromosomen verharren während der frühen und mittleren Anaphase I in der Äquatorialplatte (Abb. 18 c und d) und bewegen sich erst — und zwar nach verschiedenen Seiten — nachdem die großen Chromosomen an den Polen angelangt sind (Abb. 18 e und f). In der Regel erreichen sie die großen Chromosomen so früh, daß sie mit diesen gemeinsam in die Telophase eingehen (Abb. 18 g). Manchmal vereinigen sie sich mit ihnen aber erst in weit fortgeschrittener Telophase. Die telophasische Auflockerung beginnt vorzugsweise an den Chromosomenenden (Abb. 18 h). Die Chromosomen verschmelzen hierbei zu einer Chromatinmasse, die sich kappenförmig ausbreitet und im Zuge der Auflockerung nach und nach über die gesamte Innenseite der sich bildenden Kernmembran verteilt. Das hierauf folgende kurze erste Stadium der Interkinese führt nicht zur völligen Auflockerung, wobei das Heterochromosom sich von den Autosomen nicht unterscheidet. Hierauf folgt das typische Stadium der späten Interkinese (Abb. 19 a), das durch eine erneute Kondensierung des Chromatins erreicht wird. Das Heterochromosom zeichnet sich durch verfrühte Verdichtung aus; es läßt deutlich einen Spalt erkennen. Die großen Chromosomen bestehen aus zwei Chromatiden, die an vielen Abschnitten gepaart sind. Der fortschreitende Kondensationsprozeß scheint nicht alle Chromosomenabschnitte gleichmäßig zu erfassen (Abb. 19 b). Es wechseln Lichtungen, dünne Stellen und knotenartige Verdickungen miteinander ab, und die Größenverhältnisse der Chromosomen sind manchmal als Folge verschiedenen Verdichtungsgrades abweichend vom normalen Bild. Nach weiterer Kontraktion erscheinen

alle Chromatidenstrecken gepaart — eine Ausnahme macht nur das Endstück eines Schenkels eines der V-förmigen Chromosomen, das auch nach Abschluß der Interkinese, selbst noch in der Metaphase II, dieses Ausnahmeverhalten zeigt. Wie aus dem Bild der späten Interkinese (Abb. 19 c) hervorgeht, handelt es sich hierbei um den distal der sekundären



Abb. 19 a—i. *Penthetria holosericea*. a mittlere, b, c späte Interkinese. d Metaphase II. e frühe, f mittlere Anaphase II. g diploide Spermatocyte II in einsetzender Anaphase. h Telophase II (kappenförmige Ausbreitung des Chromatins). i Spermatidenkern. Alles KES.

Einschnürung gelegenen Abschnitt desjenigen V-förmigen Chromosoms, das durch diese sekundäre Einschnürung strukturell gekennzeichnet ist. Der allgemeine Habitus der Chromosomen der späten Interkinese gleicht demjenigen der Chromosomen des Stadiums vor der Prometaphase I, abgesehen davon, daß sie jetzt etwas stärker kontrahiert sind und nur mehr einen (den Äquations-) Spalt aufweisen. Das kleine Chromosom erscheint sogar in genau der gleichen Gestalt wie dort.

In der Metaphase II sind alle Chromosomen maximal kontrahiert (Abb. 19 d). Das besondere Merkmal der Chromosomen dieses Stadiums, das sie von denen aller oben beschriebenen Fälle unterscheidet, ist das

Ausbleiben jeglicher Abstoßung der Chromatidenstrecken. Die Chromatiden sind nicht nur am Spindelansatz, sondern auf ihrer ganzen Länge eng gepaart, abgesehen von der schon in der späten Interkinese erwähnten Abstoßung eines distalen Abschnittes (Abb. 19 d, 2. Chromosom von rechts).

Die Anaphase II (Abb. 19 e und f) ist ein Abbild der Anaphase I mit verkleinerten Chromosomen. Die Chromosomen zeigen dasselbe Verhalten wie dort, nur mit dem Unterschied, daß das kleine sich jetzt normal verhält und sich in die beiden Spalthälften teilt. Die Telophase II ähnelt der Telophase I ebenfalls, indem sich das Chromatin wie dort kappenförmig ausbreitet und auflockert (Abb. 19 h). Nach gleichmäßiger Verteilung des Chromatins über die Innenfläche der Kernmembran tritt der Spermatidenkern in ein ruhekernartiges Stadium ein (Abb. 19 i).

Diploide Metaphasen II konnten häufig beobachtet werden (Abb. 19 g), aber über die Ursache ihrer Bildung lassen sich nach den bisherigen Untersuchungen keine Aussagen machen.

## 2. *Scatopse notata* MEIG. und unbestimmte *Scatopside*.

Für *Scatopse notata* lagen Präparate nicht in genügender Anzahl vor, um die Spermatogenese ausreichend darzustellen. Die cytologischen Verhältnisse dieser Form gleichen aber denen einer unbekannten *Scatopside*, von der alle Stadien vorgelegen haben in allen beobachteten Einzelheiten, so daß beide Arten gemeinsam behandelt werden können.

Die Chromosomen gehören zu den kleinsten der hier beschriebenen und setzen sich aus 5 Paaren stäbchenförmiger Autosomen und 1 Paar punktförmiger Heterochromosomen zusammen (Abb. 20a). Von den Stäbchenpaaren kann nur eines durch seine etwas größere Länge erkannt werden (in der Abb. links). Die anderen lassen sich wegen ihrer ziemlich gleichen Größe nicht voneinander unterscheiden. Die Heterochromosomen sind von außerordentlicher Kleinheit. In den Spermatogonien sind sie ungleich groß; im Weibchen sind zwei der größeren vorhanden. Man kann sie daher als Geschlechtschromosomen ansehen. Das kleine von ihnen, das Y, liegt an der Grenze der Sichtbarkeit. Seine Spalthälften sind, z. B. in der Anaphase II, mit Hilfe der angewandten Methoden nicht mehr nachweisbar.

Die Untersuchungen der Spermatogonien sind durch die Kleinheit der Chromosomen beträchtlich erschwert. Soweit sie durchgeführt werden konnten, ergeben sich keine Besonderheiten für den Ablauf der Teilungen. Im Ruhekern ist kein Heterochromatin zu entdecken. Ein Nukleolus ist vorhanden.

Die jungen Spermatocyten I sind durch ein reichliches Plasmawachstum und starke Zunahme des Kernvolumens gekennzeichnet. Die Meiose gleicht im Typus derjenigen von *Penthetria*. Technische Schwierigkeiten bieten sich aber beim Studium der frühprophasischen Stadien. Es ist kein Pachytän wie bei *Penthetria* zu erkennen, sondern das Chromatin erscheint als zartes bei Behandlung nach FEULGEN

ungefärbtes Netzwerk. Später kondensiert es sich zu 5 blaß gefärbten Schollen, die sich, nachdem der Nukleolus verschwunden ist, verdichten (Abb. 20 b). Dieser ist als großer unregelmäßig konturierter Körper im Zentrum des Kernes oder wenig exzentrisch gelegen und erscheint im

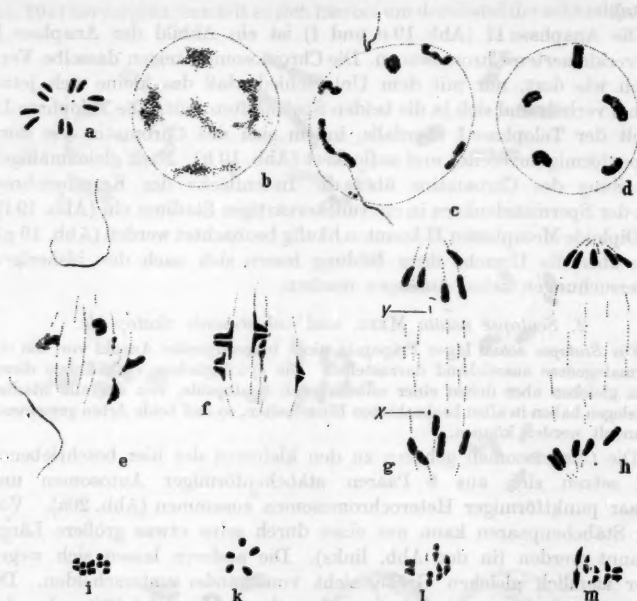


Abb. 20 a—m. *Scatopse notata* und unbestimmte Scatopsidae. a Spermatogonie, Metaphase I in Polansicht. b Schollenstadium der meiotischen Prophase. c Hervortreten der Gemini in der fortgeschrittenen Prophase; die fadenförmigen Zentren mit je 2 dünnen Geißeln. d späteres Stadium; der Konjugationsspalt bei den Autosomen sichtbar; Geschlechtschromosomen im Kern unten gelegen. e Prometaphase I, Orientieren der Gemini in der Spindel. f (späte?) Metaphase I. g, h späte Anaphase I; das Y in g oben strichförmig ausgezogen. i Seitenansicht, k Polansicht einer Spermatocyte in der Metaphase II. l späte Metaphase II (oder beginnende Anaphase II). m frühe Anaphase II. Die Zellkonturen sind nirgends mitgezeichnet, da die Zellen außergewöhnlich groß sind. Die Geißeln sind nur in c und e, und zwar nur soweit eingezeichnet als sie mit Sicherheit verfolgbar waren. d, f, g *S. notata*, alle übrigen unbestimmte Scatopsidae. a, i—m KES, FEULGEN. b, c, e Schnittpräparate (8—10  $\mu$ ), B-A, HEIDENHAIN. d, f, g CARNOY-KES nach BAUER (mdl.). h KES.

weiteren Verlauf zerklüftet oder in mehrere Brocken zerfallen. Die Chromatinschollen liegen zufällig verteilt der Innenseite der Kernmembran an. Aus ihrer Zahl läßt sich schließen, daß sie die 5 Autosomenpaare darstellen. Unter weiterer Kondensierung bilden sie sich zu 5 Gemini um, die jetzt sich dunkler färbende Chromatinkörper von unregelmäßiger Fadengestalt darstellen (Abb. 20 c). Jetzt sind auch die Geschlechtschromosomen nachweisbar, die dicht nebeneinander liegen. In einem

noch späteren Stadium (Abb. 20 d) läßt sich erkennen, daß die Gemini aus zwei längsgepaarten Partnern bestehen; der Konjugationsspalt tritt deutlich in Erscheinung (Abb. 20 d). Infolge der Kleinheit der Chromosomen ist nicht nachzuweisen, ob in diesem Stadium bereits eine Spaltung der Partner vorhanden ist oder wann sie eintritt, aber die Dicke der Partnerchromosomen spricht wohl dafür, daß sie bereits stattgefunden hat. Es setzt nun eine Abstoßung der Spindelansätze ein, wobei die Chromosomenpaare noch zufällig angeordnet liegen und die Abstoßungsrichtungen verschieden sind. In der nun folgenden Prometaphase I orientieren sich die Gemini derart, daß die Verbindungslinien ihrer Spindelansätze in parallele Lage kommen. Sie rücken an der jetzt erscheinenden Spindel in die Äquatorialplatte ein, womit das Stadium der Metaphase I erreicht ist. Im gesamten Verlauf der meiotischen Prophase treten die Geschlechtschromosomen niemals getrennt voneinander, sondern stets dicht nebeneinander liegend oder zu einem einzigen Körper verschmolzen auf. In der Prometaphase erscheinen sie stets einer gemeinsamen Spindelfaser so angeheftet, daß das eine Chromosom dem einen, das andere dem anderen Pol zugekehrt liegt.

Die Chromosomen der Metaphase I (Abb. 20 f) bieten genau dasselbe Bild wie die stäbchenförmigen Chromosomen von *Penthetria*. Die Partner sind nur an den Spindelansätzen und den angrenzenden proximalsten Abschnitte auseinandergezogen, im übrigen aber bis zu den Enden hin gepaart. Der Konjugationsspalt ist überall sichtbar. Nichts deutet auf das Vorhandensein von Chiasmata hin. Die Abstoßung der Spindelansätze ist stärker als in der Prometaphase. Die proximalen Abschnitte sind zu einem langen dünnen Hals ausgezogen. Die Geschlechtschromosomen liegen in der späten Metaphase schon den Polen genähert sich genau gegenüber. Ihr Abstand ist etwas größer als der, den die Spindelansätze der Autosomen aufweisen. Als Ursache dieser konstanten Lagebeziehung muß eine konstante Prophasepaarung angenommen werden.

Die Anaphase I beginnt nicht immer gleichmäßig bei allen Chromosomen. Oft sind einige noch im Metaphasezustand, während andere bereits in Dyaden getrennt auf dem Wege zu den Polen sind. Außerdem liegen die einzelnen Dyaden während der frühen Anaphase häufig in recht verschiedener Höhe ähnlich wie bei *Penthetria*. Die Trennung der Partner beginnt an den proximalen Abschnitten und ergreift allmählich die distalen Teile, bis auch die Enden, an denen sie zuletzt noch verbunden sind, sich voneinander lösen. Die Geschlechtschromosomen verteilen sich reduktionell gemäß ihrer metaphasischen Einstellung. In der späten Anaphase (Abb. 20 g und h) findet man die Chromosomen wieder in ziemlich gleicher Höhe auf der Spindel. An den Polen angelangt, verkleben sie miteinander. Eine Auflockerung in der Telophase und Bildung eines ruhekernartigen Kernes konnte nicht beobachtet werden. Während sich um sie und den sich in ihrer Umgebung ansammelnden Kernsaft eine Membran bildet, bleiben sie kontrahiert und liegen dieser



an der polwärts gewandten Innenfläche an. Später lösen sich die Chromosomen wieder voneinander, ihren Kontraktionsgrad beibehaltend, und verteilen sich über die Innenseite der Kernmembran.

Es ist kein Interkinesestadium beobachtet worden, in dem die sonst typischen Figuren auftreten. Vielmehr erscheinen die Chromosomen stets kompakt; in diesem Zustand treten sie auch in die Prometaphase II ein und wandern zur Äquatorialplatte.

In der Metaphase II (Abb. 20 i und k) verhalten sich die Autosomen anscheinend ähnlich wie die von *Penthetria*. Trotz ihrer Kleinheit und weitgehenden Kontraktion läßt sich erkennen, daß sich die Spalthälften nicht abstoßen, sondern in ganzer Länge weiterhin gepaart sind. Unklar bleibt es, ob die Spindelansätze zusammenbleiben wie bei *Penthetria*. Hinsichtlich der Geschlechtschromosomen sind Metaphaseplatten mit einem X und solche mit einem Y zu erwarten. Es lassen sich solche mit nachweislichem Y-Chromosom nicht finden, wohl aber Platten, in denen gar kein Geschlechtschromosom zu sehen ist (Abb. 20 i). Es ist möglich, daß letztere deshalb auftreten, weil sie ein Y besitzen, dessen Spalthälften schon etwas auseinandergerückt sind und infolge ihrer Kleinheit unterhalb der Sichtbarkeitsgrenze liegen. In den ganz frühen Anaphasen II mit einem X kann beobachtet werden, daß dessen Spalthälften, die gerade noch sichtbar sind, schon ziemlich weit auseinander liegen, entsprechend den Spindelansätzen einiger Autosomen (Abb. 20 m). Die Weiterentwicklung des telophasischen Kernes ist wegen der geringen Größe der Chromosomen nicht genau zu analysieren.

Abweichungen vom normalen Verlauf der Reifeteilungen und das Auftreten diploider Spermatozyten II sind nicht beobachtet worden. Bemerkenswert ist das außergewöhnliche Chromatin-Plasma-Verhältnis in den reifenden Keimzellen. Während die Chromatinmenge pro Zelle in den Spermatogonien die gleiche ist wie in den Spermatozyten, besteht ein auffallender Unterschied zwischen den Plasmavolumina. Im Laufe der Wachstumsphase nehmen diese in einem solchen Maße zu, daß riesige Zellen entstehen, in denen sich die in den Reifeteilungen begriffenen Chromosomen ungewöhnlich klein ausnehmen. Es zeigen sich ferner eine Reihe anderer Besonderheiten, die eine gesonderte Darstellung in einer späteren Arbeit angeraten sein lassen. Erwähnt sei hier die sehr frühzeitige Anlage der Spermiengeißel in der Wachstumsphase. Bereits während der Kondensierung der oben beschriebenen 5 Schollen in der wachsenden Spermatozyte I sind die 4 Geißeln der aus dieser Zelle später hervorgehenden 4 Spermatozoen ausgebildet (Abb. 20 c). Sie entspringen zu je zweien an den beiden Centrosomen, die in der Abbildung schon an zwei entgegengesetzte Pole gerückt sind, von denen aus sie später die erste Reifungsspindel (Abb. 20 e) bilden. In der Interkinese erfolgt mit der Trennung der Zentren die Trennung der Doppelgeißeln. Von den Polkörperchen der 2. Reifungsspindel geht dementsprechend nur eine Geißel aus.

## Anhang.

*Thaumalea testacea* ROND.

Diese Form stellt hinsichtlich der Chiasmabildung einen nicht eindeutigen Fall dar. Den Chromosomensatz zeigt die Metaphase einer Spermatogenie (Abb. 21 a). Er besteht aus 2 Paaren etwas verschieden großer V-förmiger Chromosomen und 1 Paar punktförmiger Heterochromosomen, die sich auf Grund der Untersuchung von Oogonien als Geschlechtschromosomen erwiesen. Das kleinere der Autosomen ist nahezu gleichschenkelig, das größere besitzt etwas verschieden lange Schenkel. Das Y ist so klein, daß es in den Spermatocyten oft unsichtbar bleibt.

Die Spermatogonien sind nicht eingehender untersucht worden, da sie keine Besonderheiten aufweisen.

Die früheste der beobachteten meiotischen Phasen ist das Pachytän (Abb. 21 b). Die Chromosomen sind buketartig angeordnet, die Geschlechtschromosomen liegen am Bukettipol. Im Lauf der Weiterentwicklung verkürzen sich die beiden Autosomen unter Kontraktion, an der sich anfangs die spindelansatznahen Abschnitte nicht beteiligen (Abb. 21 c). Wenn die Spiralisation auch diese erfaßt hat, sind sie im Verlauf der Fäden, die den Konjugationsspalt jetzt deutlich erkennen lassen, nicht mehr festzustellen. Bald aber treten sie wieder hervor (Abb. 21 d), indem an ihnen eine Abstoßung der Partner einsetzt, der aber nur die unmittelbar angrenzenden Teile folgen. An den sich weiter verdichtenden und verkürzenden Paaren ist manchmal auch an den Enden eine vorübergehende Abstoßung zu beobachten (Abb. 21 e). Während der Verdichtungs- und Abstoßungsprozeß an den proximalen Abschnitten verzögert ist, eilt er an den übrigen Teilen wiederum voraus, so daß die Spindelansatzstellen schließlich nur noch als Lichtung hervortreten, indem die Breite der kontrahierten Schenkel jetzt dem bei der Abstoßung erreichten Abstand der Spindelansätze entspricht (Abb. 21 f). Es tritt nun eine Phase ein, in der die proximalen Abschnitte den Vorsprung der übrigen im Ablauf der Spiralisation aufholen und schließlich denselben Verdichtungsgrad aufweisen wie diese (Abb. 21 g). Es macht sich am Ende dieses Vorganges eine Abstoßung an den Spindelansätzen bemerkbar, die langsam fortschreitet und mit der eine Orientierung der Gemini in der sich bildenden ersten Reifungsspindel einhergeht (Abb. 21 h und i). Man kann annehmen, daß damit die Prometaphase I erreicht ist.

Der Übergang in die Metaphase I (Abb. 21 k) erfolgt unter weiterer Kontraktion, maximaler Abstoßung der Spindelansätze und dem Einrücken der Paare in die Metaphasenplatte. Die Gemini haben meist eine etwas eckige Ringform, wobei zwischen den Partnern eine ziemlich weite Lichtung auftritt, wie sie für Tetraden in typischen Meiosen kennzeichnend ist. Die distalen Abschnitte der Chromosomenpaare liegen manchmal noch parallel aneinander, wie es in Abb. 20 k links dargestellt

ist. Meist trifft das aber nur für die äußersten Enden zu. Es kann weder aus dem Verhalten der Gemini in der Prophase, noch aus ihrem metaphasischen Aussehen mit Bestimmtheit auf das Vorhandensein oder Fehlen von Chiasmata geschlossen werden. Der Vergleich der Prophase mit der der oben behandelten Formen würde für ein Fehlen von Chiasmata sprechen, die Gestalt der Chromosomenpaare in der Metaphase könnte dagegen Chiasmata vermuten lassen.



Abb. 21. a—p. *Thaumalea testacea*. a Metaphaseplatte einer Spermatogonie. b Pachytän. c postpachytänes Verdichtungsstadium. d, e erstes Abstoßungsstadium. f daran anschließendes Verdichtungsstadium. g Einsetzen eines zweiten Abstoßungsstadiums mit weiter fortschreitender Verdichtung. h, i Prometaphase I. k Metaphase I. l frühe, m späte Anaphase I. n Interkinese. o Metaphase II. p Anaphase II. a KES. B-A, FEULGEN. b—p KES. Bei k  $\longleftrightarrow$ .

Die frühe Anaphase I (Abb. 21 l) ähnelt derjenigen von *Penthetria*, und das Verhalten der Chromosomen in der späten Anaphase unterstreicht diese Übereinstimmung durch das Nichtauseinanderspreizen der Spalzhälften (Abb. 21 m). Indessen macht die späte Interkinese wieder denselben Eindruck wie die entsprechenden Stadien bei Chiasmata-bildenden Formen (Abb. 21 n; Geschlechtschromosomen verdeckt). Es treten typische Kreuze auf.

Auch die Metaphase II (Abb. 21 o) weist in diese Richtung, indem sich eine deutliche Abstoßung der Schenkel beobachten läßt. In der Anaphase II (Abb. 21 p) zeigen sie dasselbe Verhalten wie bei *Dicranomyia*. Die Entscheidung über das Vorhandensein von Chiasmata kann also auf Grund der vorliegenden Ergebnisse nicht getroffen werden.

Das Verhalten der Geschlechtschromosomen ist in der Wachstumsphase dasselbe wie bei denen von *Scatopse*. Sie liegen entweder dicht benachbart nebeneinander (Abb. 21 b, d und f) oder sind miteinander verschmolzen (Abb. 21 c, e, g—k). In den Reifeteilungen zeigen sie andere Verhältnisse, deren Klärung infolge der Kleinheit der Chromo-

somen erschwert ist. In der Pro- und Metaphase ließ sich in den vorliegenden Präparaten nur das X erkennen (Abb. 21 h, i, k). In der Anaphase I teilt es sich, denn die auseinanderweichenden Chromosomen sind von gleicher Größe. Die Anaphase II zeigt solch ein Chromosom in nur einer der sich trennenden Tochterplatten (Abb. 21 p). Daraus ist zu schließen, daß Postreduktion der Geschlechtschromosomen vorliegt. Ob in der Metaphase das Y mit dem X verbunden bzw. regelrecht gepaart ist oder wegen seiner Kleinheit nicht sichtbar wird, kann hier nicht beantwortet werden. In der frühen Anaphase II wurde es in einer einzigen der benachbarten Zellen gleichen Stadiums sichtbar (Abb. 21 o).

#### D. Allgemeiner Teil.

##### I. Die Chromosomensätze der Nematoceren.

Ein Vergleich der im speziellen Teil beschriebenen Chromosomensätze mit den früher angegebenen Karyotypen von Nematoceren ist in der Tabelle 1 durchgeführt worden. In diese sind nur die Lycoriiden (Sciariden) und Heteropezinen wegen ihres komplizierten Chromosomenzyklus nicht mit aufgenommen. Ebenso sind die Zahlenbestimmungen, die nur an Riesenchromosomen durchgeführt worden sind, ausgeschlossen, da sie keine sicheren Aufschlüsse über die Lage der Spindelansätze und damit die Chromosomenform geben. Dagegen sind in der Tabelle die Arten *Phryne fenestralis* und *Mycetobia pallipes* enthalten, deren Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist. In Abb. 22 sind die Chromosomenbestände der Männchen beider Arten wiedergegeben.



Abb. 22 a und b. Spermatogonien-Metaphaseplatten. a von *Phryne fenestralis*. b von *Mycetobia pallipes*. Beides KES. B-A, FEULGEN.

Die Chromosomenzahlen sind allgemein sehr niedrig ( $n = 3$  bis 7). Die höchsten Zahlen finden sich bei den Fungivoriden. *Mycetophila punctata* und *Exechia indecisa* haben außer den Geschlechtschromosomen (X, Y) haploid 6 Autosomen. Die niedrigste Chromosomenzahl, 3, findet sich außer bei *Mycetobia* bei den Culiciden, ebenso bei einigen Tendi-pediden (vgl. BAUER 1936). Die Autosomen sind V-, J- oder stäbchenförmig. Die Heterochromosomen bzw. Geschlechtschromosomen sind in der Regel die kleinsten des Satzes. Eine Ausnahme hiervon bildet nur *Exechia*.

In der absoluten Größe der Chromosomen bestehen zwischen den Arten der verschiedenen Familien erhebliche Unterschiede. Die Extremfälle stellen einerseits *Dictenidia* mit außergewöhnlich großen und *Scatopse* mit sehr kleinen Chromosomen dar, von denen das Y an der Grenze der Sichtbarkeit liegt. Da alle Abbildungen dieser Arbeit in gleichem Vergrößerungsmaßstab gehalten sind, ergibt ihr Vergleich einen unmittelbaren Eindruck der wechselnden Größenverhältnisse der Chromosomen.

Tabelle 1. Die Chromosomensätze der Nematoceren.

H = Heterochromosom. Für die Chromosomenform bedeutet:

V(v) = V-förmig mit einem Schenkelverhältnis von 1:1 bis 1:2/3,

J = V-förmig mit einem Schenkelverhältnis von 1:2/3 bis 1:1/3,

I(i) = stäbchen- oder V-förmig mit einem Schenkelverhältnis von 1: &lt; 1/3,

= kurzstäbchen- bis kugelförmig. Die Größenverhältnisse sind nur bei starken Unterschieden durch Verwendung kleiner Buchstaben berücksichtigt worden.

Art	Chromosomensatz			Autoren
	Zahl n =	Form		
		Autosomen	Hetero- chromosom	
<b>Phryneidae</b>				
<i>Phryne fenestralis</i> SCOP. . . . .	3 + X (Y)	V V J	I (.)	
<i>Mycetobia pallipes</i> MEIG. . . . .	2 + X (Y)	V J	I (.)	
<b>Thaumaleidae</b>				
<i>Thaumalea testaceu</i> ROND. . . . .	2 + X (Y)	V V	. (.)	
<b>Bibionidae</b>				
<i>Penthetria holosericea</i> MEIG. . . . .	4 + H	V V I I	I	
<i>Bibio hortulanus</i> L. . . . .	5	V V V V V		HEITZ u. BAUER 1933
<b>Scatopsidae</b>				
<i>Scatopse notata</i> MEIG. . . . .	5 + X (Y)	I I I I I	. (.)	
unbestimmte Scatopside . . . . .	5 + X (Y)	I I I I I	. (.)	
<b>Itonididae</b>				
<i>Phytophaga destructor</i> SAY. . . . .	4	V V V V		METCALFE 1935
<b>Fungivoridae</b>				
<i>Fungivora blanda</i> WINN. . . . .	3 + X (Y)	V V V	I (.)	FROLOWA 1929a
<i>F. guttata</i> DZIEDZ. . . . .	3 + X (Y)	V V V	I (.)	FROLOWA 1929a
<i>Mycetophila punctata</i> MEIG. . . . .	6 + X (Y)	I I I I I I	I (.)	FROLOWA 1929a
<i>Erechia indecisa</i> WOLK. . . . .	6 + X (Y)	I I I I I I	J (I)	FROLOWA 1929a
<b>Culicidae</b>				
<i>Culex pipiens</i> L. . . . .	3	V V V	(s. S. 237)	STEVENS 1911
<i>C. spec. (pungens?)</i> . . . . .	3	V V J	(s. S. 237)	STEVENS 1910
<i>Anopheles punctipennis</i> SAY. . . . .	3	V V J	(s. S. 237)	STEVENS 1911
<i>Theopaldia incidens</i> . . . . .	3	V V V	(s. S. 237)	STEVENS 1911
<i>Chaoborus plumicornis</i> L. . . . .	3 (s. S. 237)	V V V		FROLOWA 1929b
<i>Corethra (Mochlonyx) spec.</i> . . . . .	3 (s. S. 237)	V V V		FROLOWA 1929b
<b>Melusinidae</b>				
<i>Melusina spec.</i> . . . . .	3	V V J		GEITLER 1934
<b>Tendipedidae</b>				
<i>Tendipes plumosus</i> MEIG. . . . .	4	V V V I		
<i>Glyptotendipes barbipes</i> STGR. . . . .	4	V V V I		
<b>Tipulidae</b>				
<i>Tipula paludosa</i> MEIG. . . . .	3 + H	V V V	v	BAUER 1931
<i>T. spec.</i> . . . . .	3 + H	V V V	v	HEITZ 1933
<i>Dictenidia bimaculata</i> MEIG. . . . .	3 + H	V V J	v	
<b>Limoniidae</b>				
<i>Dicranomyia trinotata</i> MEIG. . . . .	3	V V J		
<i>Thaumastoptera calceata</i> MIK. . . . .	3	V V V		WOLF 1939
<b>Cylindrotomidae</b>				
<i>Phalacrocer replicata</i> L. . . . .	4 - H	V V I I	I	

Innerhalb der Familien treten Übereinstimmungen in Chromosomensatz deutlich hervor. So haben die beiden Arten der Limoniiden einen recht ähnlichen Karyotypus. Ebenso haben die untersuchten Tipulidenarten einen gleichartigen Chromosomenbestand; das gilt auch (nach Mitteilung von Herrn Dr. BAUER) für mehrere andere, teilweise nicht näher bestimmte Arten. Auch die Tendipedinen zeigen untereinander weitgehend gleiche Verhältnisse; es ist auch aus der allgemeinen Ähnlichkeit im Chromosomenbestand der Speicheldrüsen (BAUER 1936) zu schließen, daß wohl bei den meisten Arten mit 3 langen und einem kurzen Riesenchromosom das gleiche Idiogramm wie bei den hier beschriebenen Arten vorliegt. Große Übereinstimmung zeigen untereinander auch die Chromosomensätze der Culiciden. Über eine nicht in die Tabelle aufgenommene Art (*Anopheles* spec.?) mit haploid 6 V-förmigen Chromosomen hat STEVENS (1911) berichtet. In dieser liegt vielleicht eine tetraploide Form vor; wahrscheinlicher ist es jedoch, daß es sich um (durch die besonderen Milieuverhältnisse induzierte, vielleicht partielle) Keimbahntetraploidie einer diploiden Art handelt.

Neben diesen Übereinstimmungen finden sich in anderen Gruppen aber auch größere Unterschiede. Bei den Fungivoriden lassen sich die verschiedenen Chromosomenzahlen im Sinne der Regel von ROBERTSON deuten; die 3 V-förmigen Autosomen von *Fungivora* wären danach durch paarweise Vereinigung der 6 stäbchenförmigen, wie sie bei *Mycetophila* und *Ezechia* vorliegen, entstanden. In keine solche Beziehungen können aber *Phryne* und *Mycetobia* einerseits und *Penthetria* und *Bibio* andererseits gebracht werden.

Wenn also der Bestand von 6 Autosomenschenkeln für viele Nematocerenarten und — soweit sich das heute schon sagen läßt — ganze Familien kennzeichnend ist, so läßt sich von ihm aus doch keine einfache allgemeine Beziehung zwischen allen Nematoceren herstellen.

## II. Vorkommen und Verhalten der Heterochromosomen.

Mannigfaltig sind bei den Mücken die Verhältnisse hinsichtlich des Auftretens und Verhaltens von Heterochromosomen. Sie sind bei 13 von 25 Arten vorhanden und beschränken sich nicht auf bestimmte Familien, sondern kommen, abgesehen von den Tendipediden (und vielleicht Limoniiden und Melusiniden, für die aber sehr viel mehr Arten untersucht werden müßten), in allen Familien vor.

In Bau und Verhalten zeigen die Heterochromosomen große Verschiedenheiten. Für diejenigen von *Phryne*, *Mycetobia*, *Thaumalea*, *Scatopse* und (nach FROLOWA 1929a) *Fungivora* und *Mycetophila* ist die Geschlechtschromosomennatur nachgewiesen. Die ungleich großen Chromosomen im Männchen von *Ezechia* bezeichnet FROLOWA ebenfalls als Geschlechtschromosomen, ohne allerdings den weiblichen Bestand gesehen zu haben.



Die Frage nach dem Vorkommen von Heterochromosomen bei den Culiciden kann noch nicht als sicher beantwortet gelten. Nach STEVENS (1911) stellen sie bei *Anopheles punctipennis* einen Schenkel des einen V-förmigen Chromosoms dar, der als X- länger ist als als Y-Chromosom. Für *Chaoborus plumicornis* macht FROLOWA (1929b) ähnliche Angaben, jedoch sollen die Heterochromosomen einem V-förmigen Chromosom an einem Schenkel terminal angeheftet sein, sich aber auch ablösen und dann als selbständige kleine Chromosomen auftreten können. Die cytologischen Einzelheiten sind aber widerspruchsvoll, so daß die Befunde einer Nachprüfung bedürfen. Aus diesem Grunde sind sie auch in der Tabelle 1 nicht berücksichtigt worden.

Für die kleinen Chromosomen von *Penthetria*, *Dictenidia* und *Phalacrocer*a läßt sich der Nachweis ihrer Geschlechtschromosomennatur nicht mit Sicherheit führen, wenn sie auch zum mindesten bei der letztgenannten Art auf Grund der konstanten Strukturunterschiede der beiden Chromosomen im Männchen sehr wahrscheinlich ist. Der Vorbehalt ist insofern begründet, als die genauen Beobachtungen BAUERS (1931) an den ganz gleichartigen kleinen Chromosomen von *Tipula paludosa* gezeigt haben, daß neben einer — mit der Auffassung als Geschlechtschromosomen noch zu vereinbarenden — Zahlenvariabilität auch Heteromorphie der beiden kleinen Chromosomen im Weibchen gelegentlich vorkommt; es könnte sich daher um heterochromatische Chromosomen handeln, die keine Beziehungen zur Geschlechtsbestimmung haben. Wahrscheinlicher dürfte aber auch bei dieser Art sein, daß es sich um Geschlechtschromosomen handelt, die aber zum Unterschied von den Verhältnissen bei *Drosophila* beide (sowohl das X wie das Y) weitgehend heterochromatisch sind und vielleicht schon eine Stufe der Evolution erreicht haben, die kurz vor ihrer Ausschaltung liegt, welche dann vielleicht bei den Limoniiden erfolgt ist.

Hinsichtlich der Eigenschaften der Eu- und Heterochromatie, der Prä- oder Postreduktion und des normalen oder abnormen Verhaltens in der Anaphase I sind nur wenige Kombinationsmöglichkeiten verwirklicht. Heterochromatie, Ausbleiben der Paarung, Nachhinken in der Anaphase I, verbunden mit Präreduktion, treten stets zusammen auf (Tipuliden, *Phalacrocer*a, *Penthetria*). Für die sich ebenso verhaltenden Heterochromosomen der Fungivoriden gibt FROLOWA (1929a) zwar nichts über deren heterochromatische Natur an, doch ist sie auch keineswegs ausdrücklich ausgeschlossen.

Das abweichende Verhalten dieser Chromosomen erinnert an das Verhalten von Univalenten, wie sie besonders bei der Meiose von Blütenpflanzen nicht selten beschrieben worden sind. Auch bei diesen ist die anaphasische Polwanderung stark verzögert, wie auch vorher die metaphasische Einordnung. Zum Unterschied von diesen gelegentlich ungepaart auftretenden Chromosomen ist aber die Verteilung der Heterochromosomen immer geordnet, nicht zufallsgemäß. Es müssen zwischen



ihnen also „Abstoßungskräfte“ wirksam sein, die nicht an Paarungsvorgänge geknüpft sind. Sie beruhen wohl, wie die regelmäßige Trennung von X<sup>2</sup>- und Y-Chromosom in der Spermatogenese von *Drosophila miranda* (DOBZHANSKY 1935, McKNIGHT 1939) auf der partiellen Homologie der auseinander wandernden Chromosomen. Über die Natur dieser die geregelte Reduktion bewirkenden Kräfte ist eine konkrete Vorstellung noch nicht möglich.

Die Geschlechtschromosomen der übrigen Arten zeigen ein anderes Benehmen. Bei den punktförmigen kleinen Chromosomen von *Scatopse* und sicherlich auch denen von *Thaumalea* treten Paarung (wenn auch wohl nicht unter Chiasmabildung) und normaler Verlauf der Anaphasen auf. Ob sie heterochromatisch sind, ließ sich bei ihrer Kleinheit nicht feststellen, doch wird sich das bei der Untersuchung der Riesenchromosomen entscheiden lassen. Während bei *Scatopse* die Reduktion der Geschlechtschromosomen in der 1. Reifeteilung erfolgt, wird sie bei *Thaumalea* und — nach den noch unvollständigen Beobachtungen sicher auch — bei *Phryne* und *Mycetobia* erst in der 2. Reifeteilung vollzogen.

Unter den Arten, die keine Heterochromosomen haben, fallen die Tendipediden dadurch auf, daß das kleine Chromosomenpaar in der meiotischen Prophase ein etwas abweichendes Verhalten zeigt, indem es etwas stärker kondensiert erscheint. Daß diese Erscheinung nichts mit einer etwaigen Geschlechtschromosomennatur dieser Elemente zu tun hat, zeigen besonders klar die Riesenchromosomen: die beiden kleinen Chromosomen sind strukturell vollständig gleich und zeigen auch in ihrem Heterochromatinbesitz keine durchgehenden Unterschiede zu den übrigen Chromosomen (BAUER 1936). Die Frage, was die Ursache ihres abweichenden Verhaltens ist, muß offen bleiben.

Die außerordentliche Mannigfaltigkeit der Heterochromosomen-Verhältnisse bei den Nematoceren steht in auffallendem Gegensatz zu der Einheitlichkeit anderer Gruppen, z. B. der Odonaten und der Saltatorien, bei denen im Männchen überall ein unpaares X-Chromosom mit sehr einheitlichem, bei beiden Ordnungen verschiedenem Verhalten auftritt. Die Vielfalt bei den Nematoceren erweckt den Anschein, als ob der wohl primäre X-Y-Mechanismus bei ihnen — evolutionistisch gesehen — in ein labiles Stadium gekommen ist, in welchem nebeneinander verschiedene Stufen des Abbaues und des Wiederaufbaues eines neuen Geschlechtschromosomenapparates vorliegen.

### III. Die Meiose der Dipteren.

Die typische Meiose, wie sie besonders am Beispiel der Heuschrecken klagestellt worden ist, gliedert sich in die Stadien Lepto-, Pachy-, Diplotän, Diakinese, Reifeteilungen. Sie ist durch die Untersuchungen der letzten 30 Jahre für die überwiegende Mehrzahl der Organismen nachgewiesen worden und zeigt in den verschiedenen Gruppen nur unwesentliche Modifikationen.

Demgegenüber haben schon die ersten Arbeiten an Fliegen (STEVENS 1908) gezeigt, daß bei diesen ein sehr weit reduzierter Meioseablauf vorkommt, bei dem an Stelle der verschiedenen Prophasestadien der Spermatocytenkern in einem ruhekernähnlichem Stadium verharret, aus dem sich die Tetraden unmittelbar herausdifferenzieren. Diese Befunde sind in den folgenden Jahren besonders durch METZ und seine Mitarbeiter sowie KEUNEKE bestätigt worden, wobei für manche Fliegen allerdings auch pachytänartige Stadien beschrieben worden sind. Auf Grund der bis dahin vorliegenden Untersuchungen hat BAUER (1931) darauf hingewiesen, daß bei Nematoceren normale Meiose (allerdings unter Fortfall des Leptotäns), bei orthorhaphen Brachyceren rudimentäre meiotische Prophasen und bei den Cyclorrhaphen schließlich diffuse Prophasestadien auftreten, daß also im ganzen eine Reduktionsreihe vorläge, die mit der stammesgeschichtlichen Spezialisierung zusammenfällt. DARLINGTON (1934) hat dann gezeigt, daß in der Spermatogenese von *Drosophila* die Tetradenbildung, völlig abweichend vom Normalen, nicht durch Auftreten von Chiasmata, sondern durch Beibehaltung einer längsweisen Zusammenlagerung aller 4 Chromatiden erfolgt.

Im speziellen Teil dieser Arbeit ist nun gezeigt worden, daß in der Spermatogenese der Nematoceren beide Arten der Meiose, die mit und die ohne Chiasmabildung nebeneinander vorkommen. Die besonderen cytologischen Merkmale der Meiose mit Chiasmabildung sind die folgenden:

1. Ausfall eines nachweisbaren Leptotäns und sicheren Zygotäns.
2. Beginn der Diplotän-Abstoßung an den Spindelansätzen und den proximalsten Chromosomenabschnitten.
3. Auftreten von zufallsgemäß verteilten Chiasmata.
4. Ausgeprägte Abstoßung der Chromatiden der Dyaden in der Anaphase I, späten Interkinese, Pro- und Metaphase II.

(1) Für den Ausfall des Lepto- und Zygotäns bei den Dipteren kann als Erklärung die verstärkte „Attraktion“, die auch die mitotische Paarung der Homologen herbeiführt, herangezogen werden. Die zygotänartigen Bilder bei *Dicranomyia* lassen weniger ein echtes Zygotän vermuten als ein Stadium, in dem die Vervollständigung einer im vorausgehenden Ruhestadium vorhandenen teilweisen Paarung erfolgt.

(2) Die Spindelansätze zeigen in dem auf das Pachytän folgenden Stadium ein Verhalten, das im Gegensatz steht zu demjenigen, das bei den prophasischen Paarungserscheinungen der Mitose hervortritt. Während hier im Laufe der prophasischen Loslösung der Homologen voneinander die Spindelansätze im allgemeinen erst zuletzt ihre enge Verbindung aufgeben, nachdem bereits alle oder fast alle Chromosomenabschnitte auseinandergewichen sind (Abb. 1 q, 14 a), eilen sie im promeiotischen Abstoßungsprozeß zeitlich voraus. Stadien, die man ihrem allgemeinen Habitus nach noch als Pachytän bezeichnen würde, lassen diese frühdiploiden Erscheinungen an den proximalsten Chromosomen-

abschnitten deutlich hervortreten (Abb. 2 d, 9 c, 11 b). Daß aber auch an den übrigen Abschnitten gleichzeitig eine Veränderung vor sich geht, ist durch die häufig damit verbundene Verbreiterung des Konjugationspaltes und die Kondensation der Fäden wahrscheinlich gemacht (Abb. 9b und c, eine Verkürzung der Fäden von 9 b nach 9 c konnte durch ungefähre Messungen nicht festgestellt werden). Die proximalsten Abschnitte eilen auch im Kontraktionsvorgang voraus und erscheinen heteropyknotisch. (Eine Ausnahme findet sich bei *Thaumalea*, wo der Kontraktionsprozeß gerade der proximalsten Abschnitte gegenüber den anderen hinterher „hinkt“.) Erst mit der Abstoßung der Partner voneinander an allen nicht durch Chiasmata verbundenen Teilen ist ein Diplotän im üblichen Sinne erreicht.

(3) In allen hier untersuchten Formen treten die Chiasmata nicht in bestimmten Abschnitten lokalisiert, sondern zufallsgemäß verteilt auf. Die Anzahl der Chiasmata und damit das Bild der Metaphase I variiert bei *Dicroanmyia* von Zelle zu Zelle sehr stark, bei *Tendipes*, *Phalacroceru* und *Dictenidia* weniger und bei *Glyptotendipes* kaum.

(4) Die Abstoßung der Spalthälften voneinander ist in der Anaphase I eine allen Formen mit typischer Meiose eigene Erscheinung, die bis zum Beginn der Anaphase II anhält. Sie wird aber bei *Dicranomyia* und *Dictenidia*, wie sich bei ihnen mit Sicherheit nachweisen läßt, in der Prometaphase II vorübergehend unterbrochen durch eine Paarung der Chromatiden in ihrer gesamten oder großen Teilen ihrer Länge (Abb. 15 c, 4 e). Die Spindelansätze liegen in der Metaphase II nicht immer eng aneinander (Abb. 4 f, 21 o), wie etwa in der späten Interkinese.

Die atypische Meiose, wie sie für *Penthetria* und *Scatopse* nachgewiesen worden ist, zeigt bei beiden Arten in den Frühstadien ein sehr verschiedenes Bild. Gemeinsam ist ihnen das Fehlen der Chiasmata. Als besondere Kennzeichen können die folgenden gelten, die aber bei *Scatopse* nur zum Teil verwirklicht sind:

1. Ausfall der postpachytänen Abstoßung am Spindelansatz und Verzögerung der Kontraktionserscheinungen an den unmittelbar benachbarten Abschnitten.

2. Sichtbarwerden der Spaltung der Chromosomen in Tochterchromatiden in einem durch weit fortgeschrittene Kontraktion gekennzeichneten Stadium.

3. Beschränkung einer in der Folge einsetzenden prometaphasischen Abstoßung der Partner auf deren Spindelansätze und die ihnen unmittelbar angrenzenden Abschnitte.

4. Beibehaltung der Nachbarlage der Spalthälften in der Anaphase I und späten Interkinese bis zur Metaphase II.

(1) Bei *Scatopse* fehlt das Pachytän; der Kern ist von einer lockeren Retikulärstruktur. Bei *Penthetria* tritt es aber in typischer Ausbildung auf und unterscheidet sich in keinem Merkmal von dem der typischen Meiose. Die für diese kennzeichnenden diplotänen Erscheinungen treten

in der Folge jedoch nicht hervor. Es macht sich in der Nachbarschaft der Spindelansätze auch nicht die sonst auffällige Kontraktion bemerkbar, die alle anderen Chromosomenabschnitte erfaßt und gerade die proximalsten Teile verschont. In einem Stadium, in dem — nach dem Kontraktionsgrad zu urteilen — schon das Bild der Diakinese, zumindestens des späten Diplotäns zu erwarten wäre, sind die Spindelansätze der Partner, welche diese als Querlichtung oder auffällige Einschnürung hervortreten lassen, noch immer fest verbunden.

(2) In dem eben genannten Stadium erreichen die Gemini von *Scatopse* einen Kontraktionsgrad, der ihre Analyse ebenfalls gestattet, aber nur bei *Penthetria* läßt sich jetzt die Spaltung der Partner in zwei Tochterchromatiden genügend deutlich erkennen. Im Vergleich hierzu erfolgt bei *Dicranomyia* die Spaltung in Geschwisterchromatiden und eine die typische Tetradenform herbeiführende Abstoßung bereits in einem hinsichtlich des Kontraktionsgrades bedeutend früheren Zustand (Abb. 2 i).

(3) Es läßt sich im Verhalten der atypischen Gemini eine Umkehrung der zeitlichen Verhältnisse erkennen. Waren in der typischen Meiose die Spindelansätze und die ihnen unmittelbar angrenzenden Abschnitte im Entwicklungsverlauf voraus (Abstoßung, Kontraktionsgrad), so spielen sich an ihnen die Entwicklungsvorgänge hier mit einer den obigen Verhältnissen entsprechenden Verzögerung ab. Es erscheinen also erst die Spalthälften an den nicht den Spindelansätzen unmittelbar benachbarten Chromosomenabschnitten der Partner und dann erst die Abstoßungserscheinungen an den Spindelansätzen. Letztere führt zu Abständen, die auch nicht annähernd mit den bei typischen Tetraden anzutreffenden vergleichbar sind. Ein weiteres Kennzeichen der atypischen Gemini ist die Beibehaltung des Paarungszustandes der Partnerchromosomen — von proximalsten Abschnitten oder winzigen Schenkeln abgesehen.

(4) Die Anaphase vollzieht sich danach wie in einer Mitose; der grundlegende Unterschied besteht nur darin, daß die Trennung eine Reduktion ist. Ein anscheinend ebenfalls kennzeichnender Unterschied zum Normalbild, der im weiteren Verlauf der atypischen Meiose hervortritt, ist die Beibehaltung der engen Paarung der Chromatiden während der Anaphase I, der späten Interkinese, der Pro- und Metaphase II. Lediglich in der frühen Interkinese läßt sich ein wenig ausgeprägtes Auseinanderweichen der Spalthälften feststellen. Die Trennung der Spalthälften in der Anaphase II geschieht in der Weise, daß die Lösung von den proximalsten Abschnitten nach den distalen hin fortschreitet, bis zuletzt die Enden voneinander getrennt werden (Abb. 19 e).

Ähnliche Abweichungen vom Grundtypus der Meiose wie sie hier für *Penthetria* und *Scatopse* beschrieben worden sind, finden sich bereits in einer Reihe früherer Arbeiten. Die meiotische Prophase führt auch dort nicht zur Bildung der Tetraden von Kreuz-, Ring- oder komplexeren Formen, wie sie durch die Abstoßung der Partner und das Auftreten von

Chiasmata zustande kommen. Unter den Dipteren zeigen die Musciden und Drosophiliden, wahrscheinlich alle Cyclorrhaphen, das gleiche Bild wie *Scatopse*; es fehlen alle differenzierten Prophasestadien und der wachsende Spermatocytenkern behält seine Ruhestuktur bei (STEVENS 1908, KEUNEKE 1924, METZ 1926, DOBZHANSKY 1934 u. a.). Dagegen finden sich bei den Asiliden Bilder, die völlig denen von *Penthetria* gleichen; auch hier treten pachytänartige Prophaschromosomen auf, die durch einfache Kontraktion in die Metaphasegemi übergehen (METZ 1922, METZ und NONIDZ 1921, 1923).

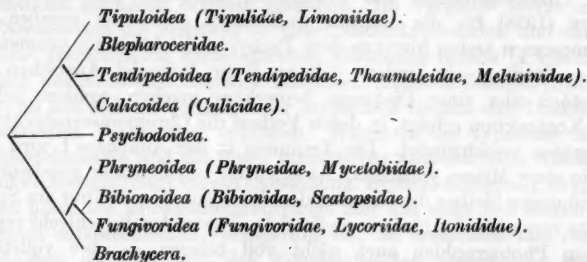
Aber auch außerhalb der Dipteren finden sich Beispiele für die Meiose ohne Chiasmabildung. Die cytologisch genaueste Beschreibung hat WHITE (1938) für die Mantide *Callimantis antillarum* gegeben. Die Chromosomen treten hier aus dem Pachytän direkt in ein prometaphasisches Stadium ein, indem sich an ihnen keinerlei Anzeichen eines Diplotäns oder einer Diakinese bemerkbar machen, sondern lediglich eine Kontraktion erfolgt, in deren Verlauf die Chromomerenstruktur des Pachytäns verschwindet. Die Trennung in der Anaphase I wird genau wie in einer Mitose vollzogen. Abweichend von den hier gegebenen Beschreibungen bleiben die Chromatiden der Dyaden jedoch nur am Spindelansatz vereinigt. Im übrigen ergibt sich — wenn das die schlecht reproduzierten Photographien auch nicht voll belegen — eine vollständige Parallele zu den Verhältnissen bei *Penthetria*.

Da nach BELLING und DARLINGTON bei allen Formen ohne Faktorenaustausch ein cytologisches Bild zu erwarten wäre, das dem der atypischen Meiose entspricht, lag es nahe, die Keimzellentwicklung genetisch bekannter Objekte zu untersuchen. Nachdem die cytogenetische Parallele von DOBZHANSKY (1934) und DARLINGTON (1934) für das Männchen von *Drosophila pseudoobscura* aufgezeigt worden war, konnten NAVILLE (1937) und MAEDA (1939) mit großer Wahrscheinlichkeit für die Weibchen von *Bombyx mori* nachweisen, daß mit dem Fehlen vom Faktorenaustausch auch der Ausfall der Chiasmata eingetreten ist. Die cytologischen Einzelheiten sind allerdings nicht in allen Einzelheiten klar gestellt worden; doch zeigen auch die Abbildungen FEDERLEYs (1938) von frühen und späten Metaphasen I aus Eiern verschiedener Tag-schmetterlinge sehr deutlich, daß die Partnerchromosomen ihrer ganzen Länge nach vereinigt sind.

Diese Beobachtungen zeigen, daß die sich in der somatischen Paarung ausdrückende verstärkte Attraktion der Homologen bei den Dipteren nicht die Ursache für das Auftreten der abweichenden Meiose bilden kann; denn einerseits finden sich bei vielen Nematoceren trotz der somatischen Paarung auch im Männchen normale Chiasmata, andererseits liegt für die Lepidopteren und *Callimantis* kein sicherer Hinweis für das Vorkommen somatischer Paarung vor, obwohl hier die Meiose in einem Geschlecht atypisch verläuft. Trotzdem kann aber wohl angenommen

werden, daß die den Dipteren eigene verstärkte Attraktion die Abwandlung der Meiose begünstigt hat.

Wenn die hier gegebenen Beschreibungen somit den einfachen phylogenetischen Zusammenhang, den BAUER (1931) noch annehmen konnte, nicht bestätigt haben, vielmehr alle Abweichungsstufen von der normalen Meiose schon bei Nematoceren aufgezeigt haben, so erhebt sich abschließend die Frage, ob die atypische Meiose mono- oder polyphyletisch entstanden ist. Das nachstehende Schema gibt in vereinfachter Form die verwandtschaftlichen Zusammenhänge nach HENDEL (1928) wieder, wobei in Klammern diejenigen Familien angeführt sind, von denen Vertreter cytologisch untersucht worden sind.



Soweit die bisherigen Ergebnisse schon schlüssig sind, zeigen die den einen Ast bildenden Gruppen *Tipuloidea* bis *Culicoidea* immer Chiasmata. Unklar ist nur *Thaumalea*, doch wird die Einordnung dieser Familie in diese Gruppe von anderen Systematikern angezweifelt. Die andere Verwandtschaftsgruppe *Phryneoidea* bis *Fungivoroidea*, zu der auch die höheren Fliegen phylogenetische Beziehungen haben, zeigt nach den hier gegebenen Beschreibungen in beiden Familien der *Bibionoidea* Chiasma-Ausfall. Aus der Beschreibung von FROLOWA (1929a) für einige Fungivoriden geht ebenfalls hervor, daß bei diesen keine Chiasmata ausgebildet werden. Das zeigt sich besonders klar an den Metaphasen der I. Reifeteilung, in denen die Chromosomen eine typische Mitoseform aufweisen. Die Lycoriiden und Itoniiden schließlich zeigen nach den Arbeiten von METZ, MOSES und HOPPE (1926) und KRACZKIEWICZ (1937), daß sich hier noch weitere Abwandlungen der Meiose herausgebildet haben, indem überhaupt keine Paarung der Homologen mehr eintritt, sondern an ihrer Stelle eine gerichtete Reifeteilung erscheint. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sich dieser Reduktionsmodus auf dem Boden der atypischen Meiose entwickelt hat.

Eine endgültige Antwort auf die Frage nach der phylogenetischen Beziehung der beiden Meiosemechanismen wird sich aber trotz der bestehenden Hinweise erst nach einer weiteren Verbreiterung der Tatsachenbasis geben lassen.



## Zusammenfassung.

1. Die Spermatogenese von 9 untersuchten Nematocerenarten läßt 2 Meiosetypen unterscheiden, von denen einer den normalen Verlauf zeigt, während der andere durch eine abgewandelte Prophase und den Ausfall der Chiasmata gekennzeichnet ist.

2. Die normale Meiose tritt auf bei *Dicranomyia trinitata*, *Thaumastoptera calceata*, *Tendipes plumosus*, *Glyptotendipes barbipes*, *Phalacrocer replicata* und *Dictenidia bimaculata*. Leptotän- und Zygotänstadien fallen als Folge der somatischen Paarung aus. Die Spindelansätze und die ihnen benachbarten Abschnitte eilen in der diplotänen Kontraktion und Abstoßung voraus. Alle anderen Phasen unterscheiden sich nicht vom Normalschema der Meiose. Die Anzahl der Chiasmata ist stets gering. Genauere Zählungen sind bei *Dicranomyia* vorgenommen worden.

3. Die atypische Meiose kommt bei *Penthetria holosericea* und *Scatopse notata* sowie einer unbestimmten *Scatopside* vor. Bei *Penthetria* ist sie durch Ausfall der postpachytänen Abstoßung im Spindelansatzbereich und den Verlauf der Prophase im Sinne einer einfachen Kontraktion gekennzeichnet. Die Abstoßung der Spindelansätze findet erst am Ende der Prophase statt. Die Chromatiden der Dyaden zeigen in der Anaphase I und der späten Interkinese bis zur Metaphase II keine Abstoßung, sondern sind auf der ganzen Länge gepaart. Bei *Scatopse* sind die Chromosomen in der Wachstumsphase völlig aufgelockert. Die sich erst kurz vor der 1. Reifeteilung wieder herausdifferenzierenden Chromosomen zeigen dasselbe weitere Verhalten wie die von *Penthetria*.

4. In der Meiose von *Thaumalea testacea* läßt sich eine Entscheidung über Fehlen oder Vorhandensein von Chiasmata nicht treffen.

5. Zahlreiche Brücken in den Reifeteilungen von *Dicranomyia* weisen auf sehr starke Inversionsheterozygotie in der untersuchten Population hin.

6. Die näher untersuchten Mitosen der Spermatogonien von *Dicranomyia* und der Follikelzellen von *Penthetria* zeigen, wie es für alle Dipteren kennzeichnend ist, ausgeprägte somatische Paarung der Homologen, die auch an den sehr zarten Chromosomen der frühesten Prophase zu beobachten ist.

7. Während bei *Dicranomyia*, *Thaumastoptera*, *Tendipes* und *Glyptotendipes* sich alle Chromosomenpaare gleichartig verhalten, treten bei den übrigen Arten Heterochromosomen auf. Diese sind bei *Phalacrocer*, *Dictenidia* und *Penthetria* heterochromatisch und werden in der 1. Reifeteilung unter starkem Nachhinken reduziert. Ihre Geschlechtschromosomennatur ist wahrscheinlich, wenn auch nicht eindeutig zu beweisen. Dagegen sind die beiden kleinsten Chromosomen bei *Thaumalea* und bei *Scatopse* sicher Geschlechtschromosomen. In ihrem anaphasischen Verhalten unterscheiden sie sich nicht von den übrigen Chromosomen. Sie werden bei *Scatopse* prä- und bei *Thaumalea* wahrscheinlich postreduziert.



## Schriftenverzeichnis.

- Bauer, H.:** Die Chromosomen von *Tipula paludosa* Meig. in Eibildung und Spermatogenese. Z. Zellforsch. 14 (1931). — Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Speicheldrüsenchromosomen (Untersuchungen an den Riesenchromosomen der Dipteren. II.) Zool. Jb., Physiol. 56 (1936). — Cytogenetik. Fortschr. Zool., N. F. 1—3 (1936/37). — Chromosomenforschung (Karyologie und Cyto-genetik). Fortschr. Zool., N. F. 4, 5 (1938/39). — **Bauer, H., u. N. W. Timoféeff-Ressovsky:** Vererbung und Vererbungscytologie von *Drosophila* im Schulversuch. Biologe 8 (1939). — **Berger, C. A.:** Prophase chromosome behaviour in the division of cells with multiple chromosome complexes. J. Hered. 29 (1938). — **Darlington, C. D.:** Anomalous chromosome pairing in the male *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 19 (1934). — **Dobzhansky, Th.:** Studies on hybrid sterility. I. Spermatogenesis in pure and hybrid *Drosophila pseudoobscura*. Z. Zellforsch. 21 (1934). — *Drosophila miranda*, a new species. Genetics 20 (1935). — **Federley, H.:** Chromosomenzahlen finnländischer Lepidopteren. I. *Rhopalocera*. Hereditas (Lund) 24 (1938). — **Frolowa, S.:** Die Polyploidie einiger Gewebe bei Dipteren. Z. Zellforsch. 8 (1929a). — Die Geschlechtschromosomen bei *Chaoborus plumicornis* F. Z. Zellforsch. 9 (1929b). — **Geitler, L.:** Die Schleifenkerne von *Simulium*. Zool. Jb., Physiol. 54 (1934). — Cytogenetische Untersuchungen an natürlichen Populationen von *Paris quadrifolia*. Z. Abstammungslehre 73 (1937). — **Heitz, E.:** Die somatische Heteropyknose bei *Drosophila melanogaster* und ihre genetische Bedeutung. Z. Zellforsch. 20 (1934). — **Heitz, E., u. H. Bauer:** Beweise für die Chromosomennatur der Kernschleifen in den Knäuelkernen von *Bibio hortulanus* L. Z. Zellforsch. 17 (1933). — **Hendel, Fr.:** Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile. Zweiflügler oder Diptera. II.: Allgemeiner Teil. Jena 1928. — **Keuncke, W.:** Über die Spermatogenese einiger Dipteren. Z. Zellenlehre 1 (1924). — **Kraczkiewicz, Z.:** La spermatogenèse chez *Miastor metraloas* (Cecidomyiidae, Diptera). C. r. Soc. Biol. Paris 127 (1938). — **Maeda, T.:** Chiasma studies in the silkworm, *Bombyx mori* L. Jap. J. Genetics 15 (1939). — **McKnight, R. H.:** The sex-determining mechanism of *Drosophila miranda*. Genetics 24 (1939). — **Metcalfe, M. E.:** The germ-cell cycle in *Phytophaga destructor* Say. Quart. J. microsc. Sci. 77 (1935). — **Metz, Ch. W.:** Chromosome studies on the Diptera. IV. Incomplete synopsis of chromosomes in *Dasyllis grossa*. Biol. Bull. 43 (1922). — Observations on spermatogenesis in *Drosophila*. Z. Zellforsch. 4 (1926). — **Metz, Ch. W., M. S. Moses and E. N. Hoppe:** Chromosome behavior and genetic behavior in *Sciara* (Diptera). I. Chromosome behavior in the spermatocyte divisions. Z. Abstammungslehre 42 (1926). — **Metz, Ch. W. and J. F. Nonidez:** Spermatogenesis in the fly, *Asilus sericeus*. J. of exper. Zool. 32 (1921). — Spermatogenesis in *Asilus notatus* Wied. Arch. Zellforsch. 17 (1923). — **Naville, A.:** Les bases cytologiques du „crossing-over“. La dissymétrie préméiotique chez *Bombyx mori*. Cellule 46 (1937). — **Pätau, K.:** Cytologischer Nachweis einer positiven Interferenz über das Centromer. Chromosoma 2 (1941). — **Stevens, N. M.:** A study of the germ-cells of certain Diptera. J. of exper. Zool. 5 (1908). — The chromosomes in the germ-cells of *Culex*. J. of exper. Zool. 8 (1910). — Further studies of the heterochromosomes of the mosquitoes. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 20 (1911). — **White, M. J. D.:** A new and anomalous type of meiosis in a mantid *Callimantis antillarum* Saussure. Proc. roy. Soc. Lond. 125 B (1938).

BEMERKUNGEN ZUR ARBEIT VON W. J. SCHMIDT:  
EINIGES ÜBER OPTISCHE ANISOTROPIE UND FEINBAU  
VON CHROMATIN UND CHROMOSOMEN.

Von

T. CASPERSSON, Stockholm.

(Eingegangen am 10. August 1941.)

Um die Rolle gewisser Kettenmoleküle beim Strukturbau der Zellelemente beurteilen zu können, ist es nicht nur erforderlich, zu wissen, ob die Moleküle orientiert liegen, sondern auch, in welchem Grade dies der Fall ist. Für Nukleinsäureketten kann eine Orientierung qualitativ mittels der Polarisationsmikroskopie nachgewiesen werden, und das Verhalten in verschiedenen Präparaten kann verglichen werden. Der absolute Orientierungsgrad läßt sich mit dieser Methode nicht bestimmen, weshalb Verf. ein Verfahren zu diesem Zweck ausgearbeitet hat (Untersuchung des Ultraviolett-dichroismus der Nukleinsäure). Mit einem derartigen Verfahren wurden Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* untersucht. (Da es sich um im Vergleich zur maximalen Empfindlichkeit der Methodik grobe Effekte handelte, wurde in diesem Spezialfall ein vereinfachtes Verfahren angewendet.) Das Ergebnis war, daß sich in diesen Chromosomen keine Orientierung über 5% beobachten ließ.

Die Methode und das angeführte Resultat wurden in einer Arbeit in dieser Zeitschrift veröffentlicht<sup>1</sup>. Diese Arbeit ist von W. J. SCHMIDT kommentiert worden. Weder die Methodik der Untersuchung noch das Resultat, welches außerhalb der Diskussion steht, wird von seinen Anmerkungen in irgendeinem Punkte getroffen. Da seine Kommentare in einer Reihe von Einzelheiten eine schiefe Darstellung der Arbeit geben, sehe ich mich leider gezwungen, dieselben richtigzustellen. In allen wesentlichen Punkten wird auf die Originalarbeit verwiesen.

SCHMIDTs Bemerkungen beziehen sich, soweit ich sehe, hauptsächlich auf die folgenden Punkte:

1. Dem Verf. (CASPERSSON) ist es nicht gelungen, Dichroismus in den Speicheldrüsenkernen nachzuweisen; da verschiedene andere Forscher aber eine Doppelbrechung an ihnen beobachtet haben, sieht sich CASPERSSON „genötigt, diesen Widerspruch zu erklären“ (S. 86).

2. Verf. soll durch gewisse theoretische Überlegungen zu derselben „ablehnenden Einstellung gegenüber den positiven polarisationsoptischen Befunden“ gekommen sein (S. 87).

Seine Bedenken gegen diese beiden Punkte äußert SCHMIDT in Form eines Übersichtsreferates der Zellkern-doppelbrechung, welches den Hauptteil seiner Arbeit ausmacht.

<sup>1</sup> CASPERSSON, T.: *Chromosoma* 1, 605 (1940). — SCHMIDT, J. W.: *Chromosoma* 2, 86 (1941).

Von nebensächlicher Bedeutung sind die folgenden methodologischen Punkte:

3. SCHMIDT wendet sich dagegen, daß Verf. die Dichroismusuntersuchung als allgemeine polarisationsoptische Methode von im Vergleich zur eigentlichen Polarisationsmikroskopie 50mal so großen Empfindlichkeit beschrieben habe (z.<sup>1</sup>B. S. 102: „Es scheint mir daher nicht anzugehen, die Messung des ultravioletten Dichroismus schlechthin als der Messung der Doppelbrechung überlegen hinzustellen“).

4a. SCHMIDT bezweifelt, daß das Testobjekt für die Untersuchung des Nukleinsäuredichroismus vollständig orientiert gewesen sei und führt gewisse eigene Versuche mit einem Nukleinsäuregel an.

4b. Die Möglichkeit, die Eigendoppelbrechung aus Strömungsdoppelbrechungsversuchen zu bestimmen, wird bestritten. (Dieser Wert wurde angewendet, um zu zeigen, daß SCHMIDTs eigene Messungen an Chironomus mit den obenerwähnten Resultaten übereinstimmen, s. l. c. S. 614).

4c. Die Messungsgenauigkeit der Polarisationsmessung läßt sich weiter treiben als bis zu den angenommenen  $2 m\mu$ , wenn die Verhältnisse im Objekt günstig liegen.

4d. SCHMIDT meint, die Polarisationsmikroskopie und die Dichroismusmessung durch Vergleich von Mikrophotographien vergleichen zu können.

Hiergegen sei kurz angeführt:

Zu 1. Verf. hat nachgewiesen, daß nicht mehr als 5% Orientierung in den untersuchten Speicheldrüsenchromosomen vorliegt, und nichts anderes. Hieran wurde keine Verallgemeinerung geknüpft (s. beispielsweise S. 618, Absatz 2). SCHMIDTs eigene Werte der Doppelbrechung im Chironomus-Material,  $2 m\mu$ , stimmen der Größenordnung nach mit diesem gut überein, indem ein Wert von  $2 m\mu$  für die mit der SIGNERschen Methode bestimmte Eigendoppelbrechung der Nukleinsäure einem ungefähren Orientierungsgrad von 3% entspricht. Es besteht kein Widerspruch, und ein solcher ist auch nicht erörtert worden. Besprochen wurde, ob die unerhebliche Orientierung, welche die Befunde von SCHMIDT u. a.<sup>1</sup> bedingt, was in diesem Zusammenhang wenig Interesse besitzt, ein Artefakt ist oder nicht, aber eine Möglichkeit, dies zu entscheiden, liegt zur Zeit nicht vor.

Zu 2. Es handelt sich um ein Mißverständnis. Nach Verf. theoretischen Überlegungen, auf welche SCHMIDT hinweist, würde im Gegenteil eine vollständige Orientierung am wahrscheinlichsten sein. In der diesbezüglichen Erörterung wird jedoch gezeigt, daß sich *dieselben mit dem nicht von der Hand zu weisenden Beobachtungsergebnis wohl vereinbaren lassen*.

Von irgendeiner „ablehnenden Einstellung“ denjenigen Beobachtungen gegenüber, welche die Grundlagen unserer Kenntnisse auf diesem Gebiet und damit auch der Untersuchung darstellen, kann keine Rede sein.

<sup>1</sup> Daß gewisse Forscher nicht einmal diese kleine Doppelbrechung beobachten konnten, erklärt SCHMIDT damit, daß sie sich nicht „regelmäßig des Polarisationsmikroskops bedienen“ (S. 98) bzw. daß der negative Befund „vielleicht nur auf unzureichende Untersuchungsmittel zurückzuführen ist“ (S. 97). Verf. hält diese Gründe bei der Beurteilung wissenschaftlicher Arbeiten nicht für ausreichend.

Da die Ansichten, welche SCHMIDT als die meinigen erörtert, von mir nicht gehegt werden, erscheint jede weitere Diskussion gegenstandslos<sup>1</sup>.

Zu 3. Das Referat der Darstellung des Verf.s ist unvollständig. Hier möge noch einmal hervorgehoben werden, was aus der Überschrift der Arbeit, der Beschreibung der Methodik und der Zusammenfassung hervorgeht, nämlich daß die Dichroismusmethode eine *Spezialmethode zur Untersuchung von Nukleinsäureketten* ist. Dieselben als Konkurrenten der Polarisationsmikroskopie hinzustellen, wäre ebenso schief, wie eine Spezialfärbungsmethode mit der Mikroskopie im allgemeinen zu vergleichen. Es handelt sich bei dem Vergleich lediglich um die Untersuchung von Nukleinsäureketten, und hier besteht das angegebene Empfindlichkeitsverhältnis. Dies wird aus den verschiedenen Stellen der Arbeit ersichtlich, nicht aber aus den von SCHMIDT aus dem Zusammenhang genommenen Zitaten.

4a. Wäre das Testobjekt unvollständig orientiert, so würde die Empfindlichkeit der Methode in entsprechendem Grade *zunehmen*, weshalb in diesem Punkte keine Kritik des Untersuchungsergebnisses liegt. (Leider ist eine derartige Zunahme nicht zu erwarten. Die Ursache der unvollständigen Orientierung in SCHMIDTs gestrecktem Gel besteht darin, daß ein denaturiertes Nukleinsäurepräparat angewendet wurde. Die Thymonukleinsäure wird äußerst leicht, schon bei Wasserstoffionenkonzentrationen in der Nähe des Neutralpunkts, depolymerisiert. Bereits die Präparationen von NEUMANN und FEULGEN sind daher sehr polydispers und müssen als denaturiert bezeichnet werden. So haben SCHMIDT, PIKKELS und LEVENE mittels Ultrazentrifugenummessungen bei der NEUMANN-FEULGENschen Präparation gefunden, daß die Molekulargewichte zwischen 50000 und 1–2 Millionen liegen. Die nach HAMMARSTEN dargestellte Säure hat in Lösung ein Molekulargewicht um etwa 1 Million. ASTBURY hat mit diesem Präparat eine gute Orientierung erhalten, zum Unterschied von dem ihm von W. J. SCHMIDT zur Verfügung gestellten.)

4b. SCHMIDTs Verneinung der Richtigkeit der wohlbekannten, durch theoretische Behandlung und eingehende Versuche gestützten SIGNERSchen Methode für Strömungsdoppelbrechungsuntersuchungen kann hier nicht zur Diskussion kommen, ohne daß Gründe gegen jene Methode vorgebracht werden. Wahrscheinlich liegt auch hier ein Mißverständnis vor, indem diese Methode nicht mit Imbition arbeitet, was SCHMIDT anzunehmen scheint. (Siehe ferner Originalartikel sowie die Diskussion in der Faraday Society 1936.)

4c. Für die Dichroismusmessung gilt selbstverständlich ganz dasselbe wie für die Polarisationsmikroskopie, nämlich daß unter günstigen Objektverhältnissen die Empfindlichkeit gesteigert werden kann, und zwar in demselben Umfang. Das Empfindlichkeitsverhältnis bei der Nukleinsäureuntersuchung bleibt daher unberührt, siehe auch unter 4d.

4d. Daß eine *Messmethode* sich nicht an Hand von *Mikrophotographien* beurteilen läßt, dürfte kaum eine nähere Begründung erfordern. Der einzige Grund ist die Empfindlichkeit derselben in quantitativer Beziehung. Für die Dichroismusuntersuchung kann dieselbe in jedem Einzelfall durch eine einfache Berechnung aus dem Wert der Absorption der Nukleinsäure und dem Minimalwert des Dichroismus

<sup>1</sup> Die einzige Stelle in der Arbeit, welche Verf.s Ansicht nach ähnliche Assoziationen wie die von SCHMIDT vermitteln könnte, ist der bei der Erörterung des Schrifttums auf S. 608 ganz unten vorkommende, von SCHMIDT, auf S. 88 zitierte Satz. Daß die Anzahl von Kerntypen, bei welchen bisher Doppelbrechung nachgewiesen worden ist, nur „einigen wenigen Ausnahmen“ im Vergleich zu denjenigen entspricht, wo dies nicht möglich war, wo aber Doppelbrechung oft nach Alkoholbehandlung hervortritt, gilt jedoch nach wie vor, auch nach SCHMIDTs ausführlichem Referat dreier positiver Fälle.

desselben sowie den Objektdimensionen bestimmt werden. Für die Polarisationsmikroskopie kann dasselbe an Hand des Doppelbrechungswerts für die feste Substanz ( $0,03 \pm 0,01$ ) vorgenommen werden, bis irgendwelche sachlichen Gründe gegen die SIGNERSche Methode vorgebracht worden sind. *Die Methoden lassen sich also in allen Punkten durch einfache Rechnung vergleichen* (die Genauigkeit der Ultraviolettmessung geht in verschiedenen Fällen aus CASPERSSONS Arbeiten, beispielsweise 1940, hervor), weshalb Parallelversuche, wie sie SCHMIDT vorschlägt, überflüssig sind.

Die Punkte 1, 3 und 4 der Zusammenfassung fallen gänzlich in den Rahmen der oben behandelten Punkte. Punkt 2, welcher offenbar so zu verstehen ist, daß SCHMIDT meint, die Nukleinsäure sei total orientiert, ist unbegreiflich, solange kein anderer Grund hierfür vorliegt als der Nachweis, daß eine Orientierung *existiert*, und solange keine sachlichen Gründe gegen die Dichroismusuntersuchung vorgebracht worden sind, welche zeigt, daß diese Orientierung nur *einen sehr kleinen Teil der Nukleinsäure berühren kann*.

Mit dieser Stellungnahme zu den Einwänden W. J. SCHMIDTS möchte ich meinerseits die Diskussion beenden und zum Schluß nur noch meinem Bedauern darüber Ausdruck geben, daß meine Arbeit zu Fehldeutungen Anlaß geben konnte, sowie meiner Befriedigung darüber, daß das Schrifttum um ein so wertvolles Übersichtsreferat über ein aktuelles Gebiet, wie das in der Arbeit von W. J. SCHMIDT enthaltene, bereichert worden ist.

#### Schrifttum.

- ASTBURY: Persönliche Mitteilung. — CASPERSSON: J. roy. microsc. Soc. **60**, 8 (1940). — SCHMIDT, PIKKELS and LEVENE: J. biol. Chem. **127**, 251 (1939). — SIGNER u. a.: Trans. Faraday Soc. **32** (1936). — SIGNER u. GROSS: Z. physik. Chem. A **165**, 161 (1933).

